



UNIVERSIDADE FEDERAL
DO RIO DE JANEIRO



Escola de Química – EQ/UFRJ
Química Industrial

LUCAS MARCHETTI GOULART

Separação Cromatográfica dos Enantiômeros do Praziquantel

Processo Contínuo e Em Batelada

RIO DE JANEIRO
2021



LUCAS MARCHETTI GOULART

**SEPARAÇÃO CROMATOGRÁFICA DOS ENANTIÔMEROS DO
PRAZIQUANTEL – *PROCESSO CONTÍNUO E EM BATELADA***

Trabalho de Conclusão de
Curso apresentado à Escola de
Química da Universidade Federal do
Rio de Janeiro, como requisito parcial
para obtenção do título de Bacharel
em Química Industrial.

Orientador: Amaro Gomes Barreto Júnior, D.Sc.

Coorientador: Felipe Coelho Cunha, M.Sc

RIO DE JANEIRO

2021

LUCAS MARCHETTI GOULART

**SEPARAÇÃO CROMATOGRÁFICA DOS ENANTIÔMEROS DO
PRAZIQUANTEL – *PROCESSO CONTÍNUO E EM BATELADA***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
à Escola de Química da Universidade Federal do
Rio de Janeiro, como requisito parcial para
obtenção do título de Bacharel em Química
Industrial.

Aprovado por:

Carla Luciane Manske Camargo, D. Sc.

Rafael Cavalcante Santos, M. Sc.

Orientado por:

Amaro Gomes Barreto Júnior, D. Sc.

Felipe Coelho Cunha, M. Sc.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de prestar um agradecimento especial à minha mãe, Silvia, por todo apoio incondicional ao longo desses anos, confiando no meu potencial e nas minhas escolhas desde sempre, tornando esse sonho possível.

À minha namorada e melhor amiga Luíza pelo companheirismo nos momentos mais difíceis, sempre com muito cuidado e atenção, me incentivando e me apoiando ao longo desses duros anos de graduação, com os quais compartilho mais essa conquista, muito obrigado!

À Associação Atlética Acadêmica de Química – AAAQ UFRJ, por ter feito parte quase que da totalidade da minha graduação como uma válvula de escape para a saúde mental, me proporcionando muito orgulho em fazer parte desde a sua fundação, que me proporcionaram momentos e experiências que fizeram parte da minha formação pessoal e profissional que levarei comigo para sempre.

A todos os professores que eu tive o prazer de compartilhar conhecimentos e aprendizados como ferramentas primordiais na minha caminhada. Em especial ao professor Amaro pela orientação e auxílio nesse trabalho de conclusão de curso.

RESUMO

Palavras Chave: Leito Móvel Simulado, Praziquantel, Separação Cromatográfica Contínua

A esquistossomose é uma enfermidade que pertence ao grupo de Doenças Tropicais Negligenciadas e o fármaco amplamente utilizado no seu tratamento é o praziquantel, que se apresenta sob a forma de uma mistura racêmica onde apenas um dos seus enantiômeros possui ação farmacológica efetiva (L-PZQ). O outro enantiômero (D-PZQ), porém, pode provocar efeitos colaterais como dores abdominais e diarreia, além de conferir um sabor amargo indesejável, ocasionando uma grande rejeição por parte dos pacientes, principalmente o público infantil. O processo cromatográfico permite a separação dos enantiômeros da mistura racêmica, promovendo a obtenção do L-PZQ, fundamental em diversas áreas de pesquisa como, por exemplo, estudos de formulação pediátrica de medicamentos enantiomericamente puros, estudos do mecanismo de ação do L-PZQ contra a esquistossomose, entre outros. Além disso, a obtenção do enantiômero D-PZQ puro também é de grande importância nos estudos de racemização. Entretanto, a cromatografia em batelada possui algumas limitações operacionais que restringem sua produtividade e exigem um alto consumo de eluente. A utilização do processo cromatográfico de Leito Móvel Simulado (LMS) permite superar tais limitações e operar de forma contínua, promovendo um desempenho superior quando comparado ao processo cromatográfico em batelada, principalmente em termos de produtividade e consumo de solvente. Os resultados experimentais confirmaram a efetividade da separação da mistura racêmica, além de satisfazer às expectativas quanto ao desempenho de cada processo.

ABSTRACT

Keywords: Continuous Chromatographic Separation, Praziquantel, Simulated Moving Bed

Schistosomiasis is a disease that belongs to the group of Neglected Tropical Diseases and the drug widely used in its treatment is praziquantel, which is presented in the form of a racemic mixture where only one of its enantiomers has effective pharmacological action (L-PZQ). The other enantiomer (D-PZQ), however, can cause side effects such as abdominal pain and diarrhea, besides giving an undesirable bitter taste, causing a great rejection on the part of the patients, mainly the child audience. The chromatographic process allows the separation of enantiomers from the racemic mixture, promoting the obtaining of L-PZQ, which is essential in several research areas, such as studies of pediatric formulation of enantiomerically pure drugs, studies of the mechanism of action of L-PZQ against schistosomiasis, among others. In addition, obtaining the pure D-PZQ enantiomer is also of great importance in racemization studies. However, batch chromatography has some operational limitations that restrict its productivity and require a high consumption of eluent. The use of the Simulated Moving Bed (SMB) chromatographic process allows to overcome such limitations and to operate continuously, promoting a superior performance when compared to the batch chromatographic process, mainly in terms of productivity and solvent consumption. The experimental results confirmed the effectiveness of the separation of the racemic mixture, in addition to meeting expectations regarding the performance of each process.

Sumário

1 Introdução.....	12
1.1 Doenças Tropicais Negligenciadas	12
1.1.1 Esquistossomose	15
1.1.2 Tratamento contra a Esquistossomose	18
1.2 Os enantiômeros e os fármacos quirais	20
1.3 Separação em Larga Escala	24
1.4 Praziquantel.....	25
1.5 Objetivos.....	28
2 Revisão Bibliográfica	29
2.1 Cromatografia - HPLC	29
2.2 Adsorção em Leitos Móveis	32
2.2.1 Condições de Operação e Parâmetros de Performance	36
2.2.2 Separação do Enantiômeros do PZQ em Leito Móvel Simulado	45
2.3 Considerações.....	47
3 Materiais e Metodologia Experimental	48
3.1 Materiais e Equipamentos	48
3.1.1 Materiais.....	48
3.1.2 Equipamentos.....	49
3.2 Metodologia Experimental	56
4 Resultados e Discussão.....	60
4.1 Processo em Batelada - HPLC.....	60
4.2 Processo Contínuo - LMS.....	62
5 Conclusão	71
6 Referências Bibliográficas	73

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 – Distribuição das doenças negligenciadas no mundo.

Figura 1.2 – Ciclo de vida do *Schistosoma mansoni*.

Figura 1.3 – Fármacos utilizados no tratamento contra a esquistossomose.

Figura 1.4 – Par de enantiômeros.

Figura 1.5 – Centro de quiralidade do praziquantel.

Figura 1.6 – Abordagens gerais de preparação de praziquantel enantiomericamente puro.

Figura 1.7 – Rotas de síntese enantiosseletiva descobertas pela comunidade colaborativa de pesquisa (rota A) e pela organização privada (rota B).

Figura 2.1 – Separação por cromatografia. (a) Esquema ilustrativo da migração das bandas ao longo da coluna e do tempo. (b) Cromatograma obtido ao final da coluna.

Figura 2.2 – Configuração de um Leito Móvel Verdadeiro.

Figura 2.3 – Possíveis configurações para uma unidade de Leito Móvel Simulado. (a) Circuito aberto. (b) Circuito fechado.

Figura 2.4 – Perfil típico de concentração transiente.

Figura 2.5 – Diagrama proposto para calcular as condições operacionais na unidade LMS.

Figura 2.6 – Teoria do triângulo após plotar $m_2 \times m_3$ e $m_1 \times m_4$.

Figura 3.1 – Foto do sistema de HPLC utilizado. (1) Frasco de solvente; (2) Bomba; (3) Autosampler; (4) Forno; (5) Coluna Chiralcel OZ®; (6) Detector UV/Vis e (7) Software JASCO Co. ChromNav.

Figura 3.2 – Foto do sistema LMS utilizado. (1) Frascos de Alimentação/Dessorvente; (2) Desgaseificador; (3) Bombas; (4) Válvulas; (5) Colunas Chiralcel OZ®; (6) Válvulas com 2 posições; (7) Interface – LabView; (8) Frasco de Coleta de Extrato e (9) Frasco de Coleta de Refinado.

Figura 3.3 – Aba “Simulated Moving Bed: Process and Diagram” do painel de supervisão no LabView.

Figura 3.4 – Aba “Valves, Controls and Indicators” do painel de supervisão no LabView.

Figura 3.5 – Aba “Pumps Controls and Indicators” do painel de supervisão no LabView.

Figura 3.6 – (a) Regiões de separação escolhidas, de acordo com a Teoria do Triângulo. (b) Localização dos Experimentos propostos, de acordo com a Teoria do Triângulo.

Figura 4.1 – Cromatogramas obtidos dos experimentos para definir as condições operacionais do processo em batelada.

Figura 4.2 – Resultados obtidos no processo em batelada e seus respectivos parâmetros de performance.

Figura 4.3 – Cromatograma obtido no Experimento I e respectivos parâmetros de performance. (a) corrente de refinado e (b) corrente de extrato.

Figura 4.4 – Cromatograma obtido no Experimento II e respectivos parâmetros de performance. (a) corrente de refinado e (b) corrente de extrato.

Figura 4.5 – Cromatograma obtido no Experimento III e respectivos parâmetros de performance. (a) corrente de refinado e (b) corrente de extrato.

Figura 4.6 – Cromatograma obtido no Experimento IV e respectivos parâmetros de performance. (a) corrente de refinado e (b) corrente de extrato.

Figura 4.7 – Cromatograma obtido no Experimento V e respectivos parâmetros de performance. (a) corrente de refinado e (b) corrente de extrato.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1 – Exemplos de atividades biológicas exercidas por formas enantiomericamente puras.

Tabela 1.2 – Distribuição geográfica das espécies de *Schistosoma*.

Tabela 2.1 – Comparação entre a unidade LMS e a LMV correspondente.

Tabela 2.2 – Resultados obtidos nos trabalhos referenciados em [6, 27].

Tabela 3.1 – Constantes de Henry de A (D-PZQ) e B (L-PZQ) e a porosidade interna da coluna.

Tabela 3.2 – Condições operacionais dos experimentos realizados.

Tabela 4.1 – Resultados obtidos no processo contínuo na unidade LMS e comparação com os trabalhos referenciados em [6, 27].

Tabela 4.2 – Comparação dos resultados obtidos entre os processos em batelada e contínuo.

1 Introdução

1.1 Doenças Tropicais Negligenciadas

O termo “doenças negligenciadas” foi originalmente proposto na década de 1970, segundo o programa denominado *The Great Neglected Diseases* e é atribuído às doenças que não apresentam tratamento satisfatório e/ou não despertam interesse das indústrias farmacêuticas, apesar de serem responsáveis por uma alta taxa de mortalidade [39]. Posteriormente, no documento *Fatal Imbalance*, a organização Médicos sem Fronteiras propôs a seguinte taxonomia de doenças: Globais – como sendo aquelas que ocorrem em todo o mundo; Negligenciadas – presentes em outros países, mas predominantemente em países em desenvolvimento e Mais Negligenciadas – exclusivas de países em desenvolvimento [34]. Já o Relatório da Comissão sobre Macroeconomia e Saúde da OMS [64] propõe outra classificação, semelhante à apresentada anteriormente: Doenças Tipo I – que atingem grandes contingentes populacionais, tanto em países ricos como pobres; Doenças Tipo II – predominantes em países pobres, mesmo que ainda presentes nos países ricos e Doenças Tipo III – quase que exclusivamente presente nos países pobres, onde encontram-se as doenças negligenciadas que não só prevalecem em condições de pobreza, mas que também contribuem para a manutenção do quadro de desigualdade social, já que representam forte entrave ao desenvolvimento [39].

Ainda que tenha forte impacto nas condições de saúde, os investimentos destinados são insuficientes pois exercem pouca atração comercial para as indústrias, visto que acometem populações de menor poder aquisitivo. Para agravar ainda mais o quadro, grande parte dos medicamentos utilizados nas terapias foram descobertos há pelo menos cinco décadas, são de difícil administração, possuem uma alta toxicidade, os tratamentos são demorados e de alto custo, o que favorece a não adesão do paciente.

Estima-se que juntas, as doenças negligenciadas atinjam um quarto da população mundial, principalmente em países subdesenvolvidos e em desenvolvimento, como ilustra a Figura 1.2. A maioria das infecções tropicais persiste como “doença negligenciada” por causa de seu baixo interesse econômico para as grandes indústrias farmacêuticas nos países desenvolvidos. Consequentemente, estima-se que mais de um

bilhão de pessoas ao redor do mundo tenham entrado no século 21 sem serem afetadas pela revolução do século anterior observada na saúde, que contribuiu tanto para avanços na qualidade e tempo de vida das pessoas, principalmente em países desenvolvidos. Esta tendência é manifestada na amplamente reconhecida “lacuna 10/90”: 90% dos recursos investidos em pesquisa em saúde são gastos com problemas de saúde que afetam somente 10% da população mundial, enfatizando as profundas discrepâncias na saúde entre nações pobres e ricas [33].

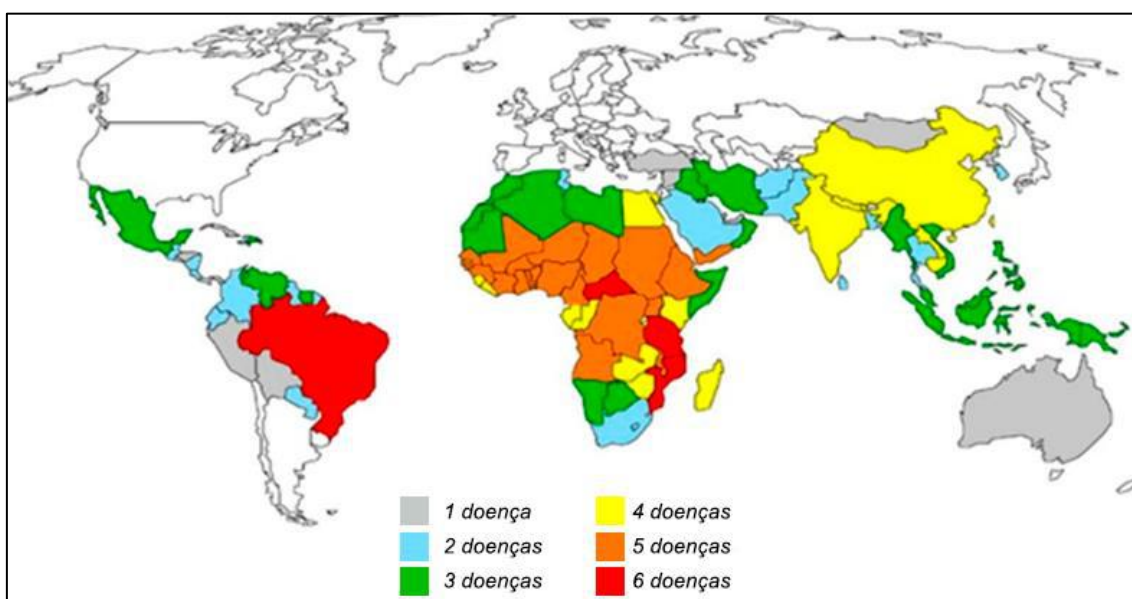


Figura 1.1: Distribuição das doenças negligenciadas no mundo. Adaptada de [52]

Em resposta a isto, diversas abordagens estão sendo perseguidas na academia e instituições do governo para preencher esta lacuna, como o “Plano Global de Combate às Doenças Negligenciadas” da OMS (*Global Plan to Combat Neglected Tropical Diseases 2008-2015*), que define prioridades, diretrizes, estratégias e metas para a reversão de um conjunto de 17 doenças – dentre elas a Esquistossomose, abordada no presente estudo – a partir de diversas ações que envolvem, principalmente: quimioterapia preventiva e controle de transmissão, controle de vetores, fornecimento de água potável e ações de saneamento, controle de zoonoses e intensificação na gestão de casos [63, 67].

No Brasil, doenças infecciosas tais como esquistossomose, malária, tuberculose, leishmaniose visceral e tegumentar, febre amarela e hepatite pertencem a um grupo de

enfermidades que entram nessa classificação e possuem uma tendência à persistência ou que mostrou redução somente muito recentemente [43].

Mundialmente, estas doenças continuam a representar enormes problemas de saúde pública, especialmente para pessoas vivendo nos trópicos onde infecções parasitárias são responsáveis por mortes, crescimento e desenvolvimento prejudicados em crianças, assim como doenças crônicas e debilitantes em adultos [14]. A prevenção e o tratamento de doenças parasitárias permanecem problemáticos. Vários compostos previamente úteis não são mais efetivos devido à disseminação de variantes dos parasitas resistentes aos fármacos. A erosão dos programas de saúde pública de controle de vetores, o surgimento de resistência aos inseticidas entre populações de vetores e mudanças ambientais, notavelmente associadas com práticas de manejo de água e solo, contribuíram para a emergência de doenças parasitárias [21].

1.1.1 Esquistossomose

A esquistossomose é uma doença parasitária endêmica e existem seis espécies de *Schistosoma* que podem causar a esquistossomose ao homem: *S. hematobium*, *S. intercalatum*, *S. japonicum*, *S. malayensis*, *S. mansoni* e *S. mekongi*. Segundo dados da OMS, estima-se que pelo menos 229 milhões de pessoas necessitaram de tratamento preventivo em 2018 [66]. Trata-se de uma doença de ocorrência em áreas tropicais e subtropicais, especialmente em comunidades pobres onde o acesso à água potável e saneamento básico são escassos. Existem duas formas principais de esquistossomose – intestinal e urogenital –, registrada em 54 países. Estima-se que cerca de 90% das pessoas que necessitam de tratamento sejam principalmente da África e América. Segundo a Tabela 1.2, é possível observar que apenas a *S. mansoni* é encontrada no Brasil, em virtude da inexistência de moluscos suscetíveis aos demais helmintos.

	Espécies	Distribuição Geográfica
Esquistossomose Intestinal	<i>Schistosoma mansoni</i>	África, Oriente Médio, Caribe, Brasil, Venezuela e Suriname
	<i>Schistosoma japonicum</i>	China, Indonésia, Filipinas
	<i>Schistosoma mekongi</i>	Vários distritos do Camboja e da República Democrática Popular do Laos
	<i>Schistosoma guineensis</i>	Áreas de floresta tropical da África central
	<i>Schistosoma intercalatum</i>	
Esquistossomose Urogenital	<i>Schistosoma haematobium</i>	África, Oriente Médio, Córsega (França)

Tabela 1.1: Distribuição geográfica das espécies de *Schistosoma*.

Dentre as doenças tropicais negligenciadas, a esquistossomose é considerada uma das mais difundidas no mundo [18] ficando atrás somente da malária em termos de impacto que uma doença parasitária pode causar sobre a saúde humana [66]. Apesar de estar presente em mais de 50 países e já ter infectado mais de 83 milhões de pessoas, é uma das doenças mais negligenciadas no mundo. No Brasil, a doença foi descrita em

18 estados e no Distrito Federal, sendo que sua ocorrência está diretamente ligada à presença dos moluscos transmissores. Os estados das regiões Nordeste, Sudeste e Centro-oeste são os mais afetados.

Popularmente conhecida como barriga d'água, a doença está diretamente relacionada às condições de vida das famílias e afeta principalmente populações socialmente vulneráveis, com baixo nível de escolaridade e renda. Os indivíduos são infectados quando formas larvais do parasita – liberadas por caracóis de água doce – penetram na pele durante o contato com a água infestada. A Figura 1.3 ilustra o ciclo de vida do *Schistosoma mansoni*:

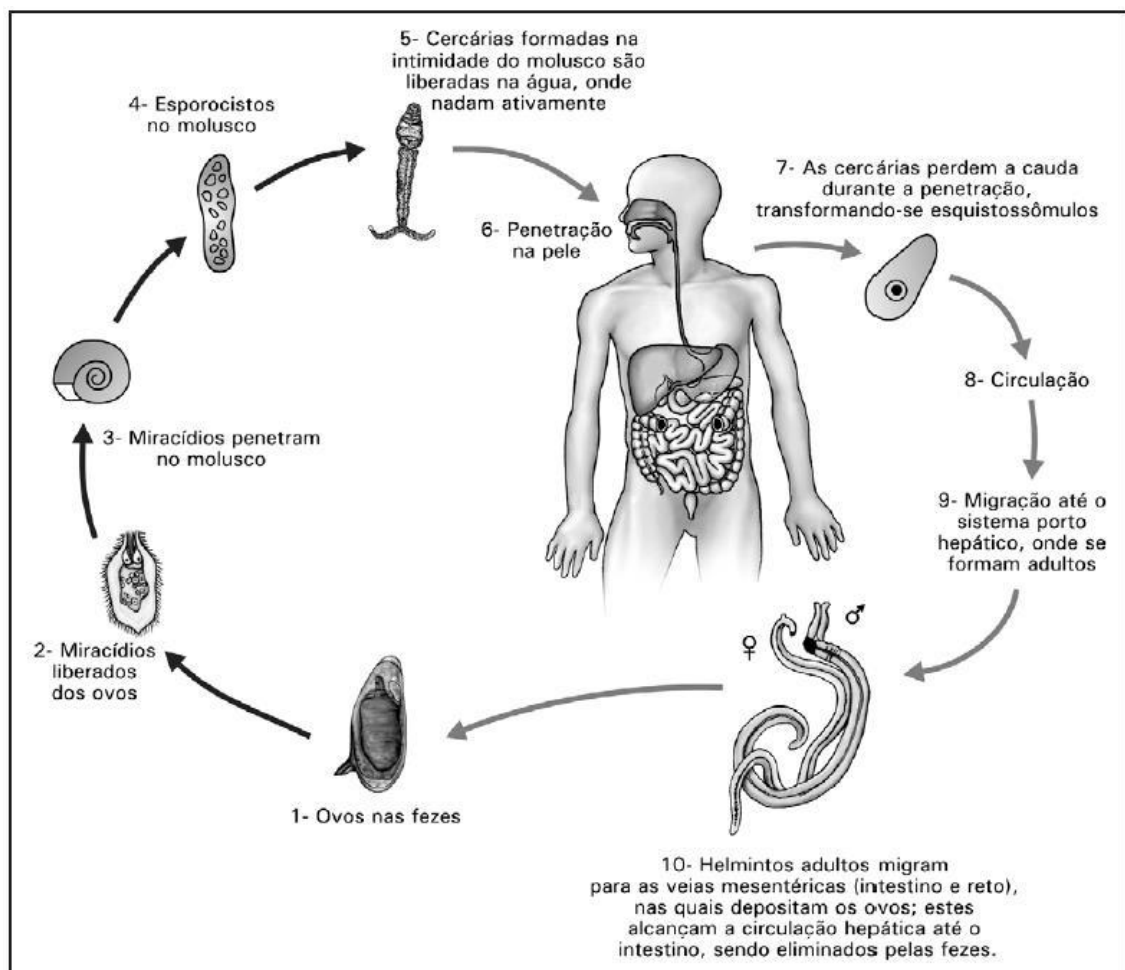


Figura 1.2: Ciclo de vida do *Schistosoma mansoni*.

Após as cercarias de *Schistosoma mansoni* serem liberadas de um molusco hospedeiro, elas possuem apenas um breve período de tempo para localizar e penetrar

no hospedeiro definitivo. Essa transição envolve diversas modificações estruturais, fisiológicas e bioquímicas que serão adaptadas ao ambiente do hospedeiro definitivo [60]. Já na circulação do hospedeiro, são carregados passivamente pela corrente sanguínea seguindo para os capilares pulmonares que, apesar de evidentes mudanças morfológicas, pouco se sabe sobre a fisiologia e bioquímica dos esquistossômulos pulmonares. A partir daí, o modo de migração até o sistema hepático é um assunto ainda controverso; entretanto, as evidências indicam uma rota intravascular, podendo realizar vários caminhos antes de se instalarem no fígado [36, 59].

1.1.2 Tratamento contra a Esquistossomose

Há relatos de que a quimioterapia da esquistossomose teve início de fato na época da Primeira Guerra Mundial, quando o tártaro emético (tartarato de antimônio e potássio) foi administrado em pacientes com esquistossomose hematóbica, causada pela espécie *Schistosoma hematobium*. Em seguida, vários sais de antimônio foram introduzidos para o uso clínico. Porém, a necessidade de repetidas doses por via parenteral e também a evidência dos seus efeitos colaterais e tóxicos, tornaram clara a necessidade de encontrarem uma nova droga que fosse administrada via oral e que fosse livre de compostos metálicos [7],

Desde então, diversos estudos e propostas surgiram ao longo dos anos, inicialmente testaram compostos derivados de uma série de xantonas que ficaram conhecidas por compostos da série miracil. Entre eles, miracil A, uma aminoxantona alquilada, foi o precursor desta série de compostos e, posteriormente, outro derivado da série miracil, o miracil D, com o nome genérico de lucanthone, foi o primeiro não-antimonial usado, clinicamente, no tratamento contra *S. mansoni* e *S. hematobium* [25].

Estudos posteriores, já na década de 60, ROSI *et al.* (1965) [50], obtiveram um novo metabólito ativo derivado do miracil D a partir da hidroxilação do grupo metil por ação microbiana – *Aspergillus sclerotium* – dando origem a uma droga ativa tanto por via muscular como por via oral, denominada hycanthone. Estudos feitos em roedores mostraram que a eficácia da hycanthone contra o *S. mansoni* é três vezes maior quando comparado com a lucanthone e, clinicamente, foi usado em dose única por via intramuscular em humanos [3]. Outro composto que também foi descrito na história dos esquistossomicidas foi o niridazol, que, ao contrário da hycanthone e lucanthone, era efetivo também contra *S. japonicum* [26]. Porém, tanto os efeitos tóxicos graves quanto à preocupação com a segurança do tratamento, resultaram no abandono desses compostos.

Novos avanços e desafios seguiram-se ao longo dos anos em busca de potenciais esquistossomicidas até que, na década de 70, Richards e Foster (1969) e Baxter e Richards (1971) descreveram uma série de derivados tetraidroquinolínicos que

apresentaram ação esquistossomicida marcante. De maneira análoga ao surgimento da hycanthone, a partir da hidroximetilação, surge a oxamniquina [2, 16, 48].

No fim dessa mesma década, um dos mais importantes passos nessa busca foi o desenvolvimento por THOMAS *et al.* (1975) [57] ao descreverem o praziquantel, um composto pirazinoisoquinolino que inicialmente foi usado como cestocida de uso veterinário. Estudos em conjunto entre os laboratórios Bayer e Merck com derivados pirazinoisoquinolínicos como antiparasitários revelaram, após sintetizarem mais de 400 compostos, que o mais promissor seria o EMBAY 8440 ou praziquantel [58]. A Figura 1.4 destaca os fármacos utilizados no tratamento da esquistossomose.

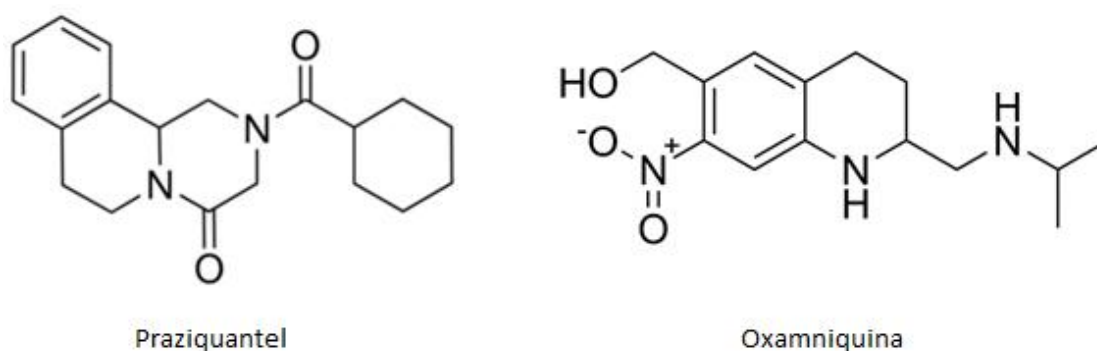


Figura 1.3: Fármacos utilizados no tratamento contra esquistossomose.

Atualmente, a Organização Mundial de Saúde coloca o metrifonato, oxamniquina e praziquantel como as principais drogas para o tratamento das esquistossomoses humanas [66], sendo o metrifonato um composto organofosforado utilizado como inseticida, efetivo no tratamento e controle de infecções por *S. hematobium*, a oxamniquina por sua vez para *S. mansoni* e o praziquantel para todas as espécies de parasitas humanos, incluindo *S. japonicum*.

1.2 Os enantiômeros e os fármacos quirais

Antes de abordarmos os aspectos que envolvem os fármacos quirais, torna-se importante uma contextualização mais abrangente de isomeria. *Isômeros* são compostos que possuem os mesmos átomos constituintes, porém a disposição espacial desses átomos na molécula é diferente, conferindo características químicas diversas. Os isômeros podem ser classificados de acordo com essa distribuição atômica – isômeros de função, de cadeia, etc. –, mas o foco do presente estudo é a distribuição de seus átomos no espaço: os *estereoisômeros*. Eles podem ser divididos em geométricos ou óticos. Os isômeros geométricos são estereoisômeros que não apresentam atividade ótica – capacidade que certas substâncias possuem de desviar o plano da luz polarizada – e sua nomenclatura está centrada em *cis* (mesmo lado) e *trans* (lados opostos) para descrever sua disposição espacial. Os isômeros óticos são aqueles que apresentam atividade ótica, possuindo centros quirais ou assimétricos que diferem entre si apenas pela disposição espacial dos átomos, mas que são idênticos no que diz respeito às ligações atômicas e à sua ordenação nas respectivas moléculas.

Os enantiômeros são estereoisômeros relacionados entre si por uma simetria em relação a um plano e são imagens espaciais umas das outras, mas que não são sobreponíveis, como mostra a Figura 1.1 e a mistura entre dois enantiômeros é conhecida como *racemato* ou *mistura racêmica* à qual é opticamente inativa [4, 15, 22].

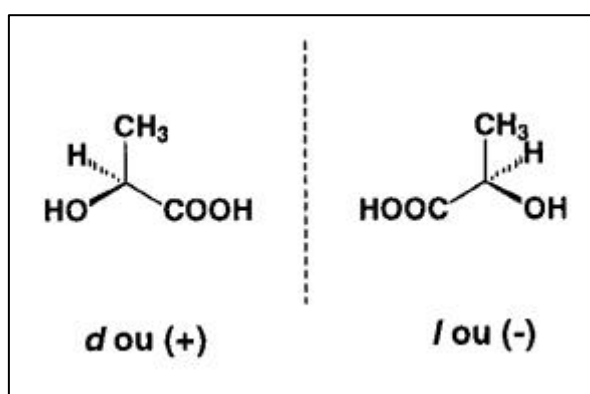


Figura 1.4: Par de enantiômeros. Adaptada de [4]

Podemos dizer então que a quiralidade se manifesta quando a molécula possuir uma das seguintes características: 1) um centro de quiralidade caracterizado pela presença

de um átomo de carbono (C*) ao qual se ligam quatro grupamentos diferentes, sendo a condição necessária para que uma molécula apresente isômeros com atividade ótica [9] (átomos como Si*, S*, P*, N* também podem ser centro de quiralidade); 2) um eixo de quiralidade (alenos, espiranos); 3) um plano de quiralidade 4) uma forma de hélice. Os enantiômeros que constituem uma mistura racêmica são muito semelhantes em relação a maior parte de suas propriedades físico-químicas. Fisicamente, diferem apenas no efeito sobre a rotação da luz polarizada e quimicamente, são idênticos, exceto ao interagirem com outros compostos quirais. A quiralidade é uma propriedade intrínseca dos blocos essenciais da vida – como aminoácidos (com exceção da glicina) e açúcares e, conseqüentemente, proteínas e polissacarídeos – responsável pelas diferenças de atividade farmacológica e farmacocinética de dois enantiômeros. Como resultado da natureza quiral dos sistemas biológicos, enzimas e receptores interagem diferentemente com os enantiômeros de um fármaco quiral [30].

PATRICK (1995), [45] no seu livro “An Introduction to Medicinal Chemistry”, resume muito bem as importâncias características dos enantiômeros:

“Existem somente duas diferenças detectáveis entre dois enantiômeros de um composto quiral: eles desviam o plano da luz polarizada em direções opostas e ainda interagem diferentemente com outros sistemas quirais, como as enzimas. Isso tem sido de grande importância para a indústria farmacêutica”.

O fato de existirem enzimas e receptores altamente estereoespecíficos no organismo, conduz às características biológicas diferentes para as estruturas quirais, devido a uma ocupação preferencial de um sítio receptor por um dos enantiômeros [56].

O que se sabe também, é que enantiômeros possuem, na grande maioria das vezes, ações terapêuticas diferentes entre si. Como consequência direta desse fato, podemos ter, de um modo geral, quatro tipos de comportamentos biológicos esperados [15, 56]: 1) apenas um dos enantiômeros possui a atividade biológica desejada; 2) os enantiômeros possuem propriedades farmacologias idênticas, ou próximas, tanto do ponto de vista qualitativo quanto quantitativo; 3) os enantiômeros possuem atividade qualitativamente idênticas, mas quantitativamente diferem entre si e 4) os dois enantiômeros possuem atividades qualitativamente diferentes. Na Tabela 1.1 são

ilustrados alguns exemplos de enantiômeros que possuem diferentes perfis terapêuticos, de acordo com a sua estereoquímica.

Fármaco	Efeito
<i>etambutol</i>	forma SS: tuberculostático forma RR: pode provocar cegueira
<i>penicilamina</i>	forma S: anti-artrítico forma R: extremamente tóxico
<i>estrona</i>	forma (+): hormônio estrogênico forma (-): inativo
<i>adrenalina</i>	a forma levogira é 20 vezes mais ativa e igualmente mais tóxica
<i>talidomida</i>	forma R: sedativo forma S: teratogênico
<i>salbutamol</i>	forma R(-) é 80 vezes mais ativo que a forma S(+)
<i>bupivacaína</i>	forma (±): ambos isômeros possuem atividade anestésica local, mas apenas o isômero (-) apresenta ação vasoconstritora, prolongando assim a ação anestésica local
<i>anfetamina</i>	a forma dextrogira é 2 vezes mais ativa que o enantiômero levogiro
<i>indacrinona</i>	forma (+): ação diurética e retenção do ácido úrico forma (-): efeito uricosúrico
<i>clorfeniramina</i>	a atividade anti-histamínica é devida essencialmente à configuração S(+)

Tabela 1.2: Exemplos de atividades biológicas exercidas por formas enantiomericamente puras – adaptada de [15].

Sabe-se também que, na grande maioria, os fármacos administrados sob a forma de uma mistura racêmica possuem características biológicas muito inferiores, e geralmente toxicidade superior, se comparados com seus enantiômeros puros [12].

Em países desenvolvidos, a busca para a geração de fármacos enantiomericamente puros tem crescido nas últimas décadas, demonstrado pelo número cada vez maior de trabalhos publicados nas mais diversas áreas relacionadas com a farmacodinâmica, farmacocinética, síntese assimétrica e o desenvolvimento de métodos analíticos.

O caso da Talidomida é um exemplo clássico da importância dessa propriedade na indústria farmacêutica, que se tornou um marco trágico que gerou diversas mudanças

na legislação e no controle de fármacos, na década de 60, foi comercializada na sua forma de mistura racêmica como um sedativo para aliviar náuseas matinais em gestantes, porém esse medicamento foi retirado do mercado após ter sido constatado apresentar sérios efeitos colaterais devido ao fato de apenas um dos enantiômeros possuir o efeito sedativo desejado, enquanto que o outro enantiômero apresenta propriedades teratogênicas que podem levar a deformações congênitas em fetos quando administrado em gestantes [23].

Após o caso da Talidomida, houve uma mobilização dos órgãos regulatórios internacionais que resultou, no caso da FDA em um documento de caráter orientativo sobre a realização de testes farmacológicos com os dois enantiômeros para que seja garantida a segurança dos medicamentos. Entretanto não há uma norma ou legislação que obrigue o fornecimento de medicamentos enantiomericamente puros.

Sendo assim, visto que cada enantiômero pode apresentar diferentes propriedades biológicas, a busca por substâncias enantiomericamente puras tornou-se um grande desafio para os pesquisadores e para indústria farmacêutica. Entretanto, este quadro está sendo revertido, graças a novas técnicas na resolução de misturas racêmicas, como por exemplo a abordada no presente estudo, a cromatografia quiral.

1.3 Separação em Larga Escala

A obtenção de produtos enantiomericamente puros pode ser feita através de diversos métodos. Frequentemente são utilizadas duas alternativas: a *síntese assimétrica* – que embora seja útil, o tempo requerido e a complexidade de algumas rotas sintéticas podem torná-la impraticável e/ou pouco atrativa, além de produzir apenas um dos enantiômeros – e a *resolução por cromatografia líquida de alta eficiência* (CLAE) ou *high performance liquid chromatography* (HPLC) em *fase estacionária quiral* (FEQ) – preferível devido ao elevado grau de pureza obtida de ambos enantiômeros.

Nos últimos anos, a separação de enantiômeros utilizando técnicas cromatográficas têm evoluído bastante devido ao desenvolvimento de novas FEQs mais eficientes. No entanto, a medida em que se aumenta a escala de produção, a separação por HPLC se torna inviável do ponto de vista econômico devido à necessidade de uma grande quantidade de fase estacionária quiral, alto consumo de solvente (fase móvel), além de outros inconvenientes associados ao reciclo, operações descontínuas e à grande diluição do produto [17, 20, 53].

Com o objetivo de superar as desvantagens apresentadas pelo processo cromatográfico em batelada, foram desenvolvidos métodos contínuos e em contracorrente, que necessitam de quantidades mais modestas de fase estacionária quiral e apresentam uma elevada produtividade consumindo menos solvente. Dentre os processos contínuos, a técnica conhecida como *Leito Móvel Simulado* (LMS) tem sido a mais utilizada recentemente para separação de enantiômeros.

1.4 Praziquantel

Praziquantel (PZQ) é o nome genérico para (RS)(2-(ciclohexilcarbonil)-1,2,3,6,7,11b-hexahidro-4H-pirazino[2,1-a]isoquinolina-4-ona, do grupo de compostos pirazinoisoquinolínicos que se apresenta sob a forma de um pó branco quase branco cristalino, de sabor amargo, que funde a 136-140 °C com decomposição. Estável em condições normais, praticamente insolúvel em água, moderadamente solúvel em etanol e solúvel em solventes orgânicos como clorofórmio e dimetilsulfóxido [8]. Possui um centro assimétrico na posição 11b, como destacado por um asterisco na Figura 1.5.

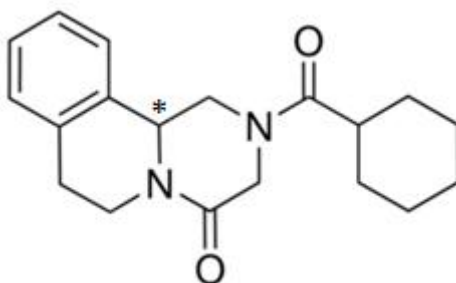


Figura 1.5: Centro de quiralidade do praziquantel.

O Praziquantel faz parte da lista essencial de medicamentos da OMS, que cataloga as necessidades mínimas para sistemas básicos de saúde [65]. É eficaz contra todas as cinco espécies de esquistossomo patogênicos ao homem, sendo as taxas de cura de aproximadamente 90% [11, 24]. Atualmente, o PZQ é administrado como uma mistura racêmica, constituída dos isômeros levógiro e dextrógiro, onde o levógiro (L-PZQ ou (-)-PZQ) é o eutômero – termo atribuído ao isômero que apresenta a atividade desejada – que apresenta atividade esquistossomicida e tem a configuração (R), e o dextrógiro (D-PZQ ou (+)-PZQ) é o distômero – termo atribuído ao isômero inativo ou não desejado – com configuração (S) que, além de não apresentar atividade esquistossomicida, embora ambos apresentem toxicidade semelhante, é o responsável por conferir o sabor extremamente amargo citado [1].

A dose típica por comprimido é alta e contém 600 mg de ingrediente farmacêutico ativo (IFA); sendo assim, se faz necessária uma grande massa de comprimido que é difícil

de ser administrada no principal público-alvo das campanhas de quimioterapia em massa, o público infantil, exigindo que os comprimidos sejam triturados, tornando o gosto amargo mais predominante. Diminuir o tamanho do comprimido, reduzir os efeitos colaterais e o sabor amargo e ao mesmo tempo ter a mesma quantidade de composto ativo pode ser viabilizada a partir da administração contendo o enantiômero L-PZQ puro [28, 35, 55, 68].

Normalmente existem quatro métodos para a conversão de uma síntese racêmica para uma que gere apenas um único enantiômero, ilustrado na Figura 1.6: 1) Síntese enantiosseletiva; 2) Cromatografia; 3) “Estereoablação” – destruição e reconstrução seletiva de um centro estéreo; 4) Resolução. Até o momento, os relatos de preparação enantiosseletiva do (R)-PZQ ou possuem detalhes insuficientes para permitir a sua avaliação ou provavelmente não tem potencial para a produção em larga escala [62].

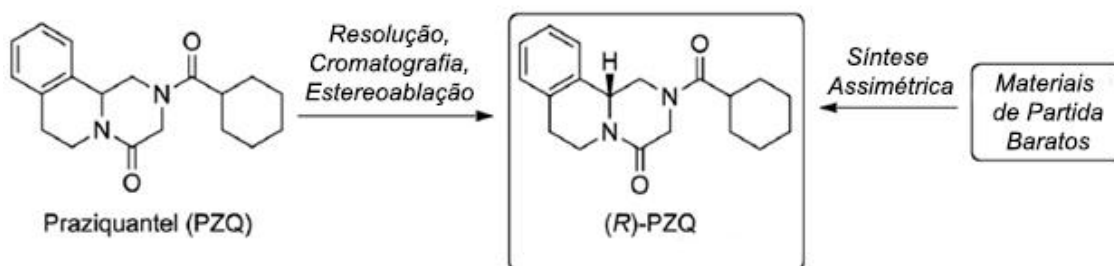


Figura 1.6: Abordagens gerais de preparação de praziquantel enantiomericamente puro.
Adaptada de [62]

No campo da síntese enantiosseletiva, existem diversas metodologias sendo abordadas a muito tempo, em diversas escalas, mas nenhuma delas que tornasse viável a produção em larga escala, visto que a natureza atual é ditada pelo fator econômico. Alexander Dömling e Kareem Khoury (2010), publicaram um trabalho revisando essa diversidade de metodologias e rotas sintéticas de produção do (R)-PZQ.

Recentemente, a partir de um projeto de pesquisa colaborativa fundado em meados de 2008 pela parceria entre a OMS e o Governo da Austrália que permitiu o compartilhamento de informações e que iniciou os trabalhos experimentais em 2010, desenvolveram a resolução de uma rota a partir do praziquantel na sua forma racêmica

(rac-PZQ). Paralelamente, na mesma época, uma organização de pesquisa privada também vinha estudando uma solução para o mesmo problema e desenvolveram uma resolução alternativa que não tivesse o PZQ como ponto de partida, mas um intermediário que fosse disponível em larga escala [61]. Ambas as rotas são apresentadas na Figura 1.7.

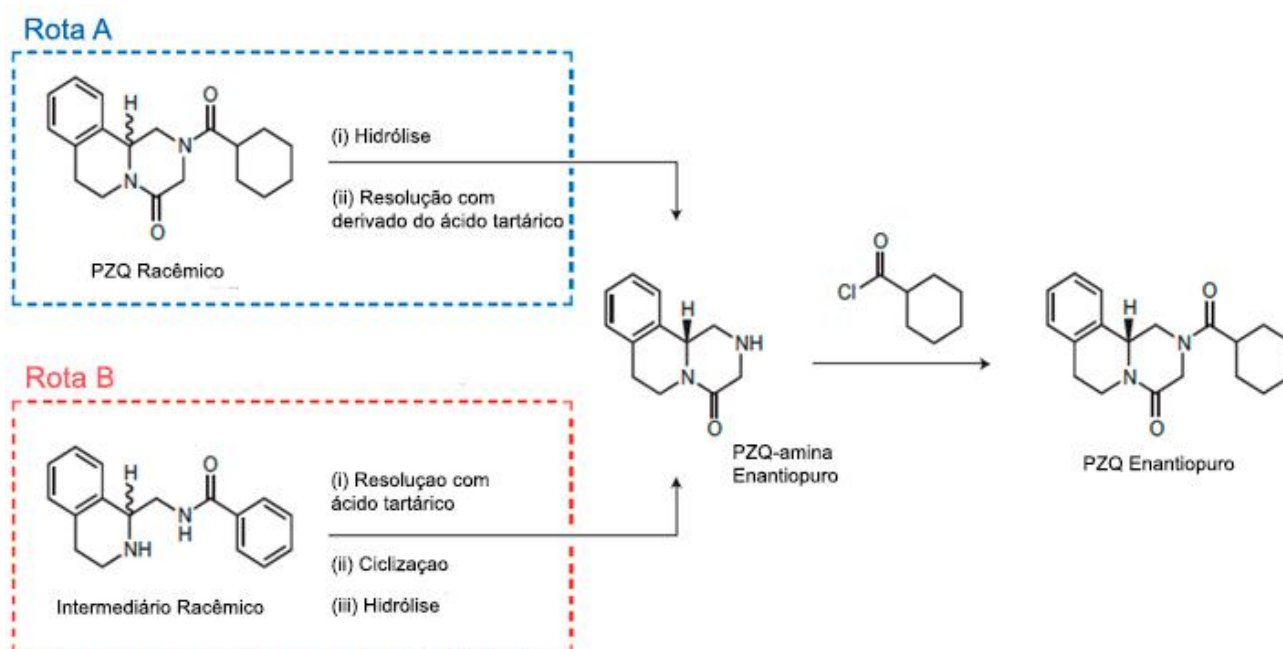


Figura 1.7: Rotas de síntese enantiosseletiva descobertas pela comunidade colaborativa de pesquisa (rota A) e pela organização privada (rota B). Adaptada de [61]

1.5 Objetivos

O presente estudo tem como objetivo principal realizar a separação dos enantiômeros de uma mistura racêmica de praziquantel utilizando duas abordagens e comparar o desempenho obtido em cada processo por meio dos parâmetros de performance:

- *Processo em Batelada* – separação por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) utilizando uma coluna de fase estacionária quiral (FEQ);
- *Processo Contínuo* – separação por uma unidade de leito móvel simulado (LMS) utilizando seis colunas da mesma fase estacionária quiral.

Em cada processo são estabelecidos objetivos específicos visando alcançar o objetivo principal deste estudo, são eles:

- Definir as condições de operação para cada processo;
- Realizar experimentos que validem o comportamento experimental da unidade LMS baseado no comportamento teórico;
- Comparar os valores alcançados para as seguintes variáveis de desempenho: pureza, recuperação, produtividade e consumo de solvente.

2 Revisão Bibliográfica

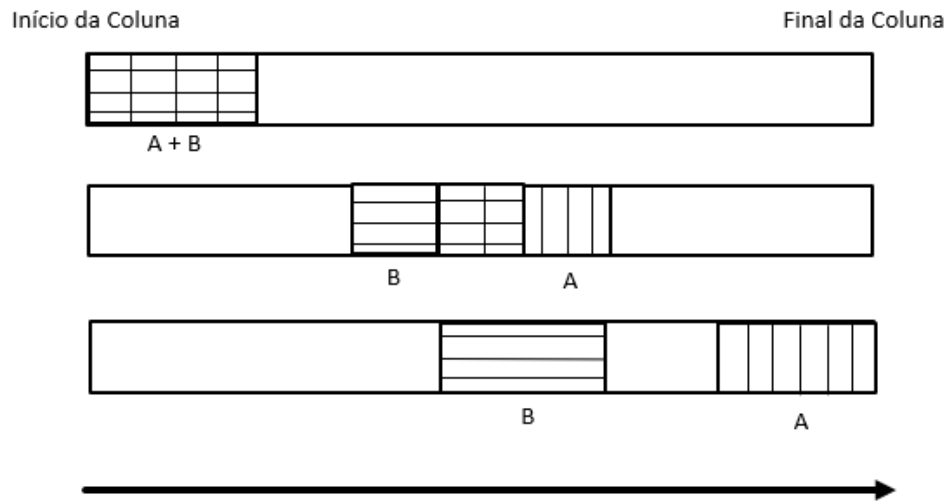
2.1 Cromatografia - HPLC

A partir de um experimento que tinha como objetivo realizar uma análise físico-química da clorofila, o botânico russo Mikhail Semenovich Tswett, em 1900 criou um procedimento que consistia basicamente na passagem de uma solução de dissulfeto de cálcio, contendo pigmentos de uma determinada planta, através de uma coluna de carbonato de cálcio, obtendo como produto final uma separação colorida dos pigmentos presente na mistura original e, assim, tal experimento deu origem ao nome que hoje define o processo de separação [49].

O processo de cromatografia em batelada está fundamentado na sua ação de particionar os componentes presentes em uma dada mistura (fase móvel) a partir da diferença de afinidade entre esses componentes e uma coluna cromatográfica (fase estacionária). Como cada componente possui um grau individual de afinidade com a fase estacionária, consequentemente ocasionando em diferentes velocidades específicas de migração pela coluna, acabam produzindo frentes de massa que podem ser coletadas no final da coluna devido à diferença entre os tempos de retenção de cada componente, promovendo assim a separação, como ilustra a Figura 2.1. Sendo assim, se faz necessário ajustar as condições de operação evitando a sobreposição dos picos.

Entretanto, o processo de cromatografia em batelada não pode ser realizado de forma contínua, restringindo a sua produtividade e exigindo simultaneamente um alto consumo do eluente utilizado para a alimentação da fase móvel [47].

a)



b)

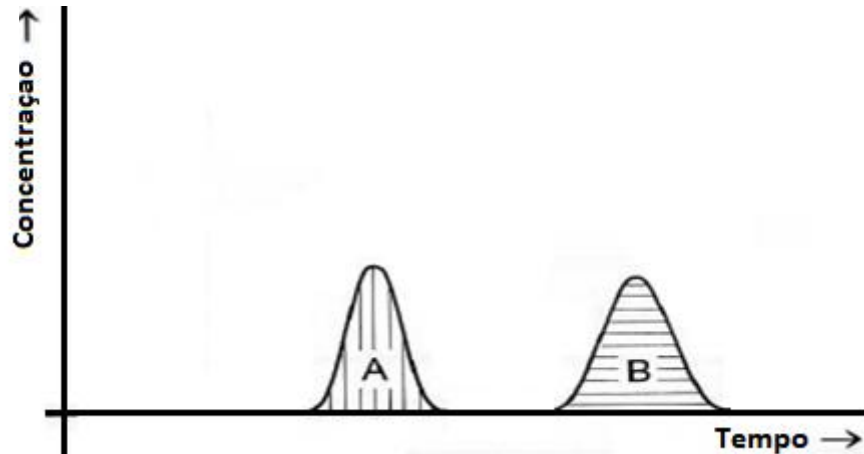


Figura 2.1: Separação por cromatografia. (a) Esquema ilustrativo da migração das bandas ao longo da coluna e do tempo. (b) Cromatograma obtido ao final da coluna.

A partir dos cromatogramas obtidos no HPLC é possível calcular alguns parâmetros de performance:

- **Pureza** ótica do componente i (A ou B), dado em %:

$$Pur_{i,out} = \int_{t_1}^{t_2} \frac{\bar{C}_{i,out}}{\bar{C}_{A,out} + \bar{C}_{B,out}} dt$$

- **Recuperação** do componente i , dado em %, sendo V_{inj} o volume injetado:

$$Rec_{i,out} = \int_{t_1}^{t_2} \frac{\bar{C}_{i,out}}{\bar{C}_{i,F} \cdot V_{inj}} dt$$

- **Produtividade** do componente i dada em $g \cdot kg_{ads}^{-1} \cdot dia^{-1}$, como sendo a razão entre a massa absoluta que deixa a coluna no intervalo t e a massa total de adsorvente:

$$Pr_{i,out} = \frac{(60.24) \cdot Q \cdot \int_{t_1}^{t_2} \bar{C}_{i,out} dt}{m_{ads} \cdot t_{op}}$$

- **Consumo de solvente** dada em $L \cdot g_{rac}^{-1}$:

$$DC = \frac{Q \cdot t_{op}}{m_{rac}}$$

2.2 Adsorção em Leitos Móveis

O conceito central de um sistema com leito móvel é de promover um contato contracorrente entre as fases sólida (fase estacionária) e líquida (fase móvel) através de uma ou várias colunas. Diversas vantagens são atribuídas ao contato em contracorrente como a alta produtividade, o baixo consumo de solvente, além de um aumento na performance de separação, gerando uma alta recuperação do produto com elevado grau de pureza. Porém, para o devido entendimento do processo em *Leito Móvel Simulado* (LMS) se faz necessário observar outro processo, o processo de *Leito Móvel Verdadeiro* (LMV).

O LMV consiste em um sistema de cromatografia contínua em que há, hipoteticamente, um escoamento real da fase sólida na direção oposta ao escoamento da fase líquida [29]. Contanto que as afinidades dos componentes da mistura, A e B, sejam diferentes em relação a fase sólida, é possível definir condições de operação (vazões) que conduzirão a uma separação espacial. A Figura 2.2 ilustra o processo LMV.

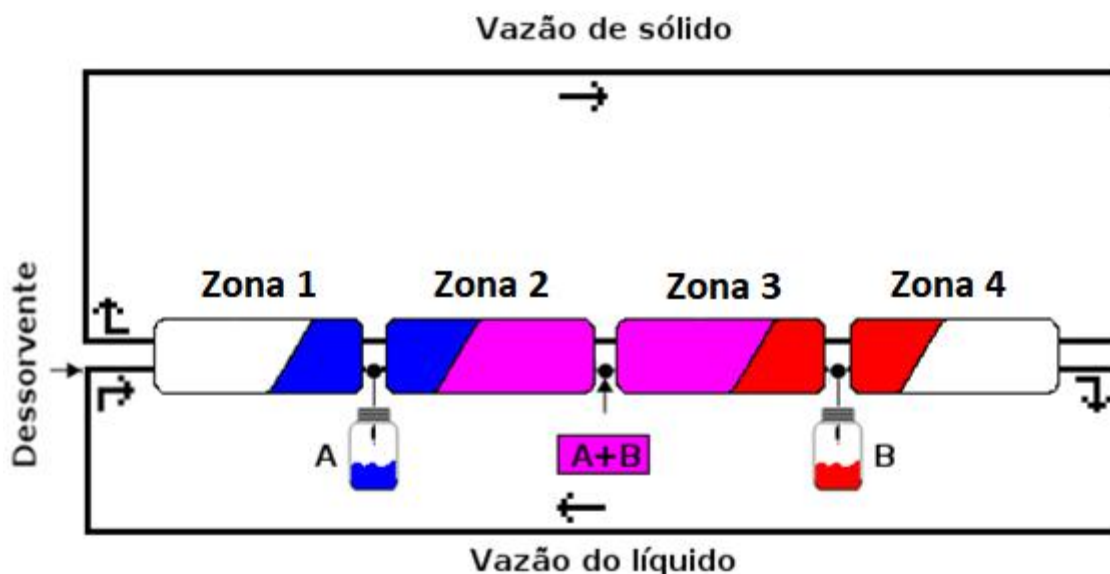


Figura 2.2: Configuração de um Leito Móvel Verdadeiro.

Considerando uma mistura binária, o componente com maior afinidade pela fase estacionária (componente A), é coletado na corrente de *extrato* e o componente com menor afinidade (componente B), é coletado na corrente de *refinado*. Em um LMV clássico, como apresentado na Figura 2.2, as correntes de entrada e saída dividem o

processo em zonas, não apenas fisicamente, mas também de modo que cada zona possua uma função específica na separação [41, 54]. Sendo $Q_{A \text{ ou } B, i}$ a vazão volumétrica de A ou B, na zona i e Q_S a vazão volumétrica da fase sólida:

- **Zona 1** – situada entre a entrada de dessorvente e a saída do componente mais retido (extrato – A) tem como função regenerar a fase sólida.

$$Q_{A,1} > Q_S$$

- **Zona 2** – situada entre a saída de extrato e o ponto de alimentação de mistura racêmica e tem como função enriquecer a fase sólida com o composto menos retido B e a fase líquida com o composto mais retido A.

$$Q_{A,2} < Q_S \text{ e } Q_{B,2} > Q_S$$

- **Zona 3** – situada entre o ponto de alimentação e a saída do componente menos retido (refinado – B) tem como função enriquecer a fase sólida com o composto mais retido A e a fase líquida com o composto menos retido B.

$$Q_{A,3} < Q_S \text{ e } Q_{B,3} > Q_S$$

- **Zona 4** – situada entre a saída de refinado e saída de dessorvente e tem como função regenerar a fase líquida.

$$Q_{B,4} < Q_S$$

Porém, o LMV não é um processo factível devido a impossibilidade de se colocar a fase sólida em movimento e mesmo que fosse colocada em movimento, problemas causados pelo movimento da fase sólida, desde abrasão do equipamento e erosão do adsorvente até dificuldade em manter o escoamento empistonado seriam problemas difíceis de serem solucionados [31].

Com o intuito de eliminar essas dificuldades inerentes ao movimento da fase sólida e ainda assim aproveitar das vantagens do escoamento em contracorrente, desenvolveu-se o processo em *Leito Móvel Simulado* (LMS), onde válvulas rotatórias ou de multi-posições são utilizadas para mudar periodicamente as linhas de alimentação,

de extrato e de refinado no sentido do fluxo da fase líquida [32, 69]. Tais trocas são realizadas em intervalos regulares e, dessa forma, promovem um movimento relativo em contracorrente entre as fases, “simulando” o movimento da fase sólida, originando o LMS.

Para uma unidade LMS existem duas possíveis configurações: *circuito aberto* e *circuito fechado*, como apresentado na Figura 2.3. No circuito aberto não há reciclo do eluente e por isso há duas correntes de entrada (alimentação e dessorvente) e três correntes de saída (extrato, refinado e dessorvente), enquanto que no circuito fechado, por haver o reciclo de eluente, existem duas correntes de entrada (alimentação e dessorvente) e duas correntes de saída (extrato e refinado).

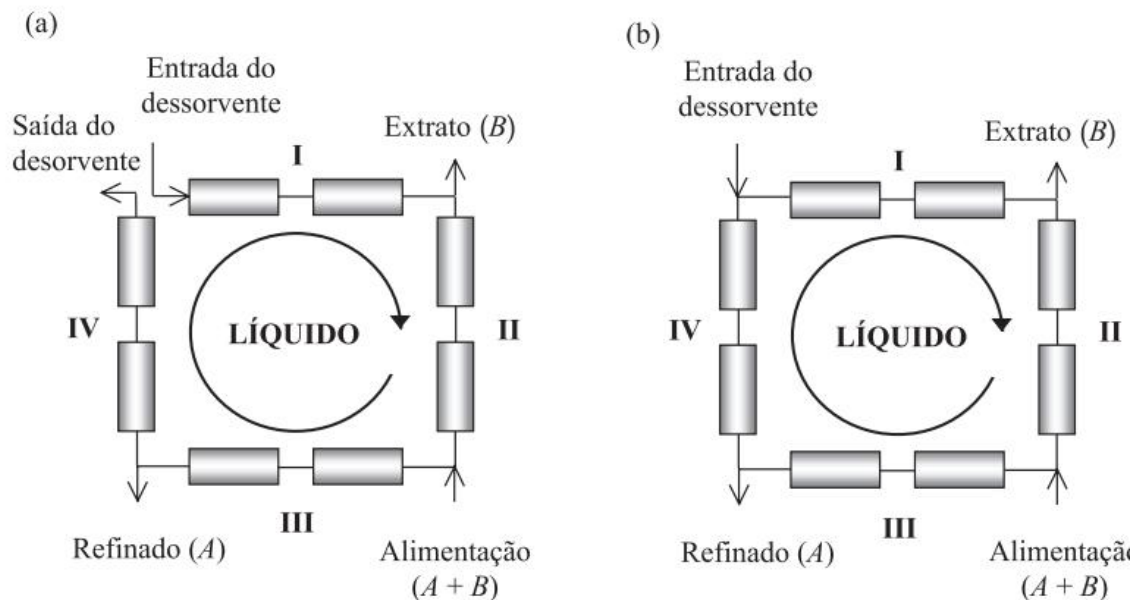


Figura 2.3: Possíveis configurações para uma unidade de Leito Móvel Simulado.
(a) Circuito aberto. (b) Circuito fechado.

A principal diferença entre o LMV e o LMS está relacionado ao regime estacionário de operação: enquanto o LMV é projetado para operar sob estado estacionário, o LMS é projetado para operar sob estado estacionário cíclico, caracterizado por perfis de concentração transientes idênticos a cada período entre as trocas de posição de duas válvulas, ilustrado na Figura 2.4, onde os pontos vermelhos representam a concentração média referente ao ciclo, que se assemelha ao estado estacionário característico no LMV. O estado estacionário cíclico é normalmente alcançado após um certo número de

ciclos, porém o estado do sistema ainda permanece variando com o tempo devido ao movimento periódico das correntes de entrada e saída ao longo das colunas.

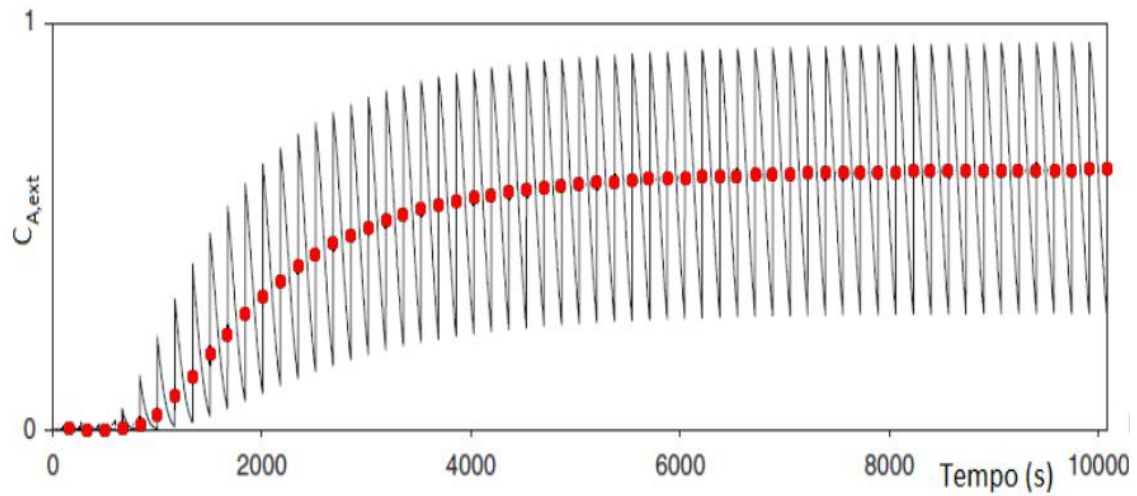


Figura 2.4: Perfil típico de concentração transiente.

Sendo assim, uma unidade LMS se aproxima do LMV aumentando o número de colunas e diminuindo seus comprimentos. Portanto, é esperado que o comportamento de uma unidade LMS seja satisfatoriamente previsto considerando-a com um número suficientemente elevado de colunas, equivalente ao LMV [38].

2.2.1 Condições de Operação e Parâmetros de Performance

Quando se trata de definir condições operacionais para uma unidade LMS, o objetivo é escolher *vazões* para cada zona da unidade e também o *tempo de troca* das válvulas que simulam o escoamento da fase sólida. Porém, visto que o processo LMS apresenta um regime estacionário cíclico, que depende do tempo, se faz necessário um modelo *dependente do tempo*, enquanto, para uma unidade LMV, um modelo *independente do tempo* é suficiente. Esta é uma das razões pelas quais utiliza-se do LMV para modelar o estado estacionário cíclico, devido a equivalência entre os dois processos, desde que sejam obedecidas algumas regras quanto às condições de operação.

A primeira regra a ser obedecida diz respeito à *velocidade relativa entre o sólido e o líquido*, que deve ser a mesma em ambos os processos. Como no LMS não há escoamento do sólido, é necessário que a velocidade do líquido nesse processo seja maior do que no LMV para que a velocidade relativa entre sólido e líquido seja a mesma em ambas as unidades [44]. Desta forma:

$$(Velocidade\ relativa\ sól.-liq.)_{LMS,i} = (Velocidade\ relativa\ sól.-liq.)_{LMV,i}$$

$$(V_i)_{LMS} = (V_i)_{LMV} + V_s \quad (1)$$

Onde V_i é a velocidade intersticial do líquido na seção i e V_s é a velocidade do sólido no LMV.

A vazão volumétrica de líquido é resultado da velocidade do líquido multiplicada pela área que o mesmo atravessa – área intersticial, dada por:

$$A_{int} = A_{seção} \cdot \varepsilon \quad (2)$$

Onde ε é a porosidade do leito, relacionada aos espaços vazios entre as partículas do leito, e $A_{seção}$ é a área da seção transversal da coluna.

De modo análogo à vazão volumétrica de líquido, a vazão volumétrica de sólido será resultado da velocidade do sólido multiplicada pela área que o mesmo atravessa, dada pela área da seção transversal da coluna multiplicada por $(1 - \varepsilon)$, Equação (3):

$$A_S = A_{seção} \cdot (1 - \varepsilon) \quad (3)$$

Sendo assim, a vazão volumétrica de sólido é dada por:

$$Q_S = V_S \cdot A_{seção} \cdot (1 - \varepsilon) \quad (3.1)$$

Explicitando a relação entre a velocidade do sólido e a vazão volumétrica do sólido, temos a Equação (4):

$$V_S = \frac{Q_S}{A_{seção} \cdot (1 - \varepsilon)} \quad (4)$$

Multiplicando a Equação (1) pela Equação (2), temos a Equação (5) que pode ser simplificada gerando a Equação (6):

$$A_{int} \cdot (V_i)_{LMS} = A_{int} \cdot (V_i)_{LMV} + A_{int} \cdot V_S \quad (5)$$

$$(Q_i)_{LMS} = (Q_i)_{LMV} + A_{int} \cdot V_S \quad (6)$$

Onde $(Q_i)_{LMS}$ e $(Q_i)_{LMV}$ são as vazões volumétricas de líquido na seção i do LMS e LMV, respectivamente.

Substituindo as Equações (2) e (4) na Equação (6), temos:

$$(Q_i)_{LMS} = (Q_i)_{LMV} + \frac{\varepsilon}{(1 - \varepsilon)} \cdot Q_S \quad (7)$$

Outra regra a ser obedecida para que haja equivalência entre o LMV e o LMS refere-se ao movimento do sólido. Enquanto na unidade LMV as posições das entradas e saídas são fixas e o *sólido se movimenta* (com vazão Q_S), na unidade LMS, o *sólido é fixo* e o

parâmetro que está relacionado com o “movimento do sólido” é o tempo de troca periódico das válvulas que faz com que as posições das entradas e saídas se movimentem, simulando assim o escoamento da fase sólida.

No intervalo decorrido no tempo de troca, o volume de sólido que se “move” no LMS corresponde ao volume de sólido contido na coluna. A razão entre esse volume de sólido e o tempo de troca deve ser igual à vazão real de sólido no LMV – Equação (8):

$$Q_s = \frac{V \cdot (1 - \varepsilon)}{t_{troca}} \quad (8)$$

Onde V é o volume da coluna e t_{troca} o tempo de troca das válvulas.

Sendo assim, no projeto das condições de operação do LMS é necessário que as relações de equivalência entre as unidades LMV e LMS sejam obedecidas de acordo com as Equações (7) e Equação (8). A Tabela 2.1 ilustra um comparativo entre as duas unidades de acordo com suas semelhanças e diferenças [5].

LMV	LMS
Estado estacionário	Estado estacionário cíclico
Movimento real da fase sólida	Troca periódica dos pontos de coleta/alimentação
Q_s	t_{troca}
$(Q_i)_{LMV}$	$(Q_i)_{LMS} = (Q_i)_{LMV} + \frac{\varepsilon}{(1-\varepsilon)} \cdot Q_s$
$i = 1, 2, 3, 4$	$i = 1, 2, 3, 4$
Fluxos de dessorvente, alimentação, extrato e refinado	Fluxos de dessorvente, alimentação, extrato e refinado

Tabela 2.1: Comparação entre a unidade LMS e a LMV correspondente.

Teoria do Triângulo

Um método comum de projeto usado para obter vazões preliminares e tempo de troca do LMS se dá através do uso da *Teoria do Triângulo*, uma estratégia que consiste em calcular inicialmente as vazões para o LMV e em seguida, converter para o LMS, a partir da equivalência entre os processos, ilustrado pelas equações (7) e (8).

A Teoria do Triângulo assume algumas simplificações:

1. A vazão volumétrica de cada fase e a porosidade da fase sólida são constantes;
2. O efeito da dispersão axial e da resistência à transferência de massa são desprezíveis;
3. O equilíbrio termodinâmico é atingido em todos os pontos da coluna, em todos os instantes;
4. O processo de adsorção é isotérmico.

Devido as simplificações 2 e 3 listadas acima, a Teoria do Triângulo corresponde ao modelo ideal [19].

Então, o primeiro passo é definir matematicamente o papel de cada zona (bem como mostrado sua função no tópico 2.2) considerando as simplificações assumidas: um sistema binário, com isoterma de adsorção linear, e modelo ideal para o LMV, definindo algumas restrições para a separação:

$$\text{Zona 1:} \quad H_A < \frac{(Q_1)_{LMV}}{Q_S} \quad (9a)$$

$$\text{Zona 2:} \quad H_B < \frac{(Q_2)_{LMV}}{Q_S} < H_A \quad (9b)$$

$$\text{Zona 3:} \quad H_B < \frac{(Q_3)_{LMV}}{Q_S} < H_A \quad (9c)$$

$$\text{Zona 4:} \quad \frac{(Q_2)_{LMV}}{Q_S} < H_B \quad (9d)$$

Onde H_A e H_B são as constantes de Henry dos componentes A e B, respectivamente. As constantes de Henry para cada componente em um dado sistema

cromatográfico podem ser obtidas a partir de experimentos de pulsos de concentração em uma coluna.

Se o conjunto de vazões volumétricas obedecerem às desigualdades acima, teremos uma corrente de saída da refinado pura com o composto menos retido B e uma corrente de saída de extrato pura com o composto mais retido A.

Considerando que as restrições impostas para cada zona foram satisfeitas através de constantes de proporcionalidade denominadas “ β_1 ”, “ β_2 ”, “ β_3 ” e “ β_4 ”, respectivamente para as zonas 1, 2, 3 e 4, as inequações 8 se transformam em:

$$\frac{(Q_1)_{LMV}}{Q_S} = \beta_1 \cdot H_A \quad (10a)$$

$$\frac{(Q_2)_{LMV}}{Q_S} = \beta_2 \cdot H_B \quad (10b)$$

$$\frac{(Q_3)_{LMV}}{Q_S} = \frac{H_A}{\beta_3} \quad (10c)$$

$$\frac{(Q_4)_{LMV}}{Q_S} = \frac{H_B}{\beta_4} \quad (10d)$$

Adicionando as equações de balanço de massa global proveniente de cada nó no processo LMV:

$$Q_D = Q_1 - Q_4 \quad (11a)$$

$$Q_X = Q_1 - Q_2 \quad (11b)$$

$$Q_F = Q_3 - Q_2 \quad (11c)$$

$$Q_R = Q_3 - Q_4 \quad (11d)$$

Onde Q_D , Q_X , Q_F e Q_R correspondem a vazão volumétrica de dessorvente, extrato, alimentação e refinado, respectivamente.

A partir das equações (10) e (11) é possível definir todas as vazões necessárias para o LMV, de acordo com o seguinte diagrama proposto na Figura 2.5:

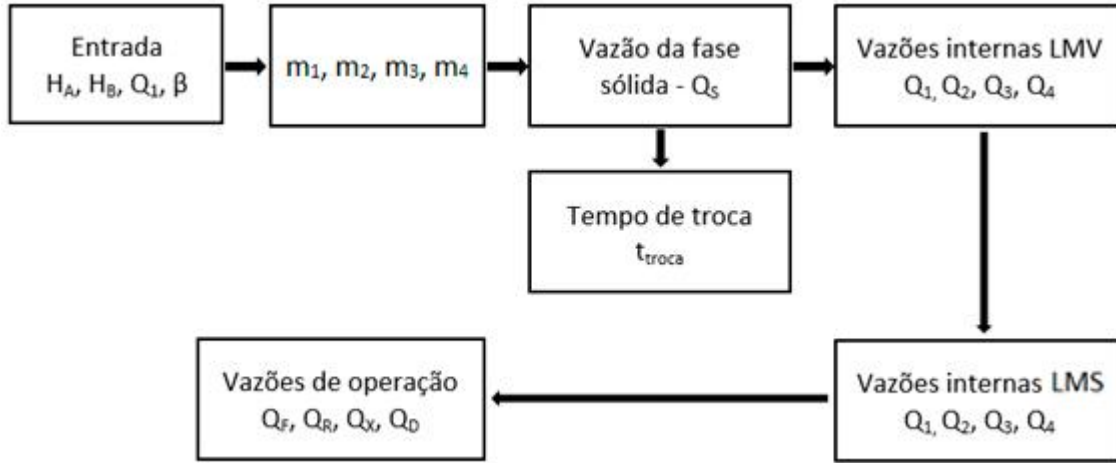


Figura 2.5: Diagrama proposto para calcular as condições operacionais na unidade LMS.

Onde m_i em cada zona é dada pela razão entre a vazão volumétrica da fase líquida na zona i e vazão volumétrica de fase sólida:

$$m_i \stackrel{\text{def}}{=} \frac{Q_i}{Q_s} \quad (12)$$

Assim, as equações (9) podem ser simplificadas e ilustradas como:

$$m_1 = \beta_1 \cdot H_A \quad (13a)$$

$$m_2 = \beta_2 \cdot H_B \quad (13b)$$

$$m_3 = \frac{H_A}{\beta_3} \quad (13c)$$

$$m_4 = \frac{H_B}{\beta_4} \quad (13d)$$

Como apresentado anteriormente, a separação dos componentes acontece efetivamente nas zonas 2 e 3 e a regeneração nas zonas 1 e 4, sendo assim, é comum traçar um gráfico, como mostrado na Figura 2.6, ilustrando a região de separação e de regeneração:

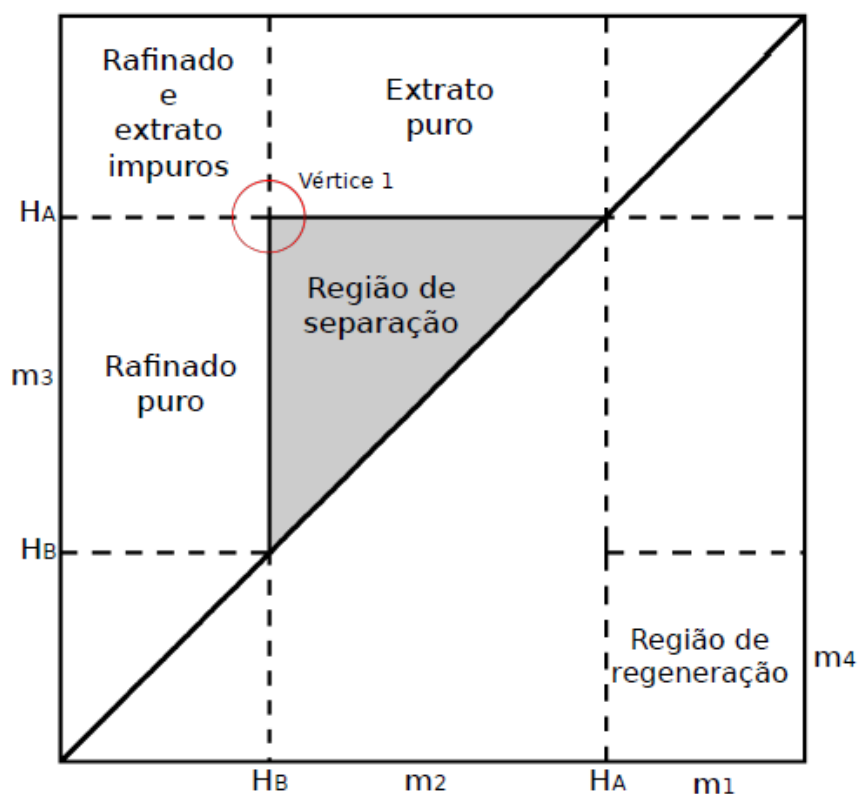


Figura 2.6: Teoria do triângulo após plotar $m_2 \times m_3$ e $m_1 \times m_4$.

O vértice destacado na Figura 2.6 representa o ponto ótimo no qual, teoricamente, teremos a maior produtividade e pureza de 100% em ambas as correntes de saída, mas é importante ter em mente que esta teoria adota diversas considerações e simplificações, como a isoterma de adsorção linear, além de desprezar efeitos de dispersão e transferência de massa, portanto, operar a separação nas condições do vértice requer estratégias de controle de processo bem definidas, visto que todo processo sofre influência do ambiente, que levam a um comportamento oscilatório natural de algumas variáveis de processo [49]. Entretanto, a principal característica do uso dessa teoria se baseia em prover dados preliminares para as condições operacionais.

Parâmetros de Performance

O desempenho de uma unidade LMS é principalmente caracterizado pelos chamados *parâmetros de performance* – pureza, recuperação, produtividade e consumo de solvente – sendo a produtividade e o consumo de solvente os dois principais critérios econômicos envolvidos no processo. A seguir são definidos esses parâmetros considerando uma separação binária, onde o componente mais retido é recuperado na corrente de extrato e o componente menos retido na corrente de refinado.

- **Pureza** ótica do componente i (A ou B) na corrente de saída (extrato ou refinado) dado em %:

$$Pur_{i,out} = \frac{\bar{C}_{i,out}}{\bar{C}_{A,out} + \bar{C}_{B,out}}$$

- **Recuperação** do componente i na corrente de saída dado em %:

$$Rec_{i,out} = \frac{Q_{out} \cdot \bar{C}_{i,out}}{Q_F \cdot \bar{C}_{i,F}}$$

- **Produtividade** do componente i dada em $g \cdot kg_{ads}^{-1} \cdot dia^{-1}$:

$$Pr_i = \frac{(60.24) \cdot Q_{out} \cdot \bar{C}_{i,out}}{(1 - \bar{\varepsilon}_{int}) \cdot \rho_{ads} \cdot V \cdot N}$$

- **Consumo de Solvente** dada em $L \cdot g_{rac}^{-1}$:

$$DC = \frac{Q_D + Q_F}{Q_F \cdot (\bar{C}_{A,F} + \bar{C}_{B,F})}$$

Onde $\bar{C}_{i,out}$ é a concentração do componente i (A ou B) na corrente de saída ($g \cdot L^{-1}$), Q_{out} é a vazão na corrente de saída ($mL \cdot min^{-1}$), Q_F é a vazão de alimentação de mistura racêmica na corrente de entrada ($mL \cdot min^{-1}$), $\bar{C}_{i,F}$ é a concentração do componente i na mistura racêmica ($g \cdot L^{-1}$), N é o número de colunas cromatográficas usadas na unidade LMS, ρ_{ads} é a densidade do adsorvente ($g_{ads} \cdot mL^{-1}$) e Q_D é a vazão de entrada de dessorvente ($mL \cdot min^{-1}$). A concentração média é definida por:

$$\bar{C}_{i,out} = \int_t^{t+N.t_{troca}} \frac{C_{i,out}}{N.t_{troca}} dt$$

Onde N e t_{troca} correspondem ao número de colunas e o tempo de troca, respectivamente.

2.2.2 Separação do Enantiômeros do PZQ em Leito Móvel Simulado

No início dos anos 90, CHING *et al.* (1993) [6] foi o primeiro a realizar a separação dos enantiômeros do praziquantel com o objetivo de alcançar uma escala semi-preparativa, utilizando a tecnologia LMS, permitindo a comparação de resultados obtidos. Os experimentos disponíveis em CHING *et al.* (1993) [6] apresentam a seguinte configuração e condições operacionais:

- Processo composto por quatro colunas cromatográficas dispostas em 1:1:1:1 (zona 1 : zona 2 : zona 3 : zona 4);
- Dimensões das colunas:
 - Diâmetro interno: 12,5 mm.
 - Comprimento: 445 mm.
- Partículas adsorventes de *triacetato de celulose microcristalino* (MCTA) de tamanho entre 25-40 μm ;
- Concentração de alimentação de mistura racêmica de PZQ de 50 g/L em metanol;
- Processo LMS sem reciclo do dessorvente;
- Condições Operacionais:
 - $Q_F = 0,30 \text{ mL/min}$
 - $Q_D = 4,10 \text{ mL/min}$
 - $Q_X = 2,60 \text{ mL/min}$
 - $Q_R = 1,80 \text{ mL/min}$
 - $t_{\text{TROCA}} = 45 \text{ min}$

LIM *et al.* (1995) [27], também fez uso de uma unidade LMS com uma configuração similar, em que as diferenças se davam quanto ao número de colunas – 8 colunas cromatográficas – e a disposição delas numa configuração 1:4:3. Os resultados de concentração no estado estacionário, recuperação e pureza, obtidos nas correntes de extrato e refinado, estão resumidos na Tabela 2.2:

Experimentos	$\bar{C}_{A \text{ ou } B, F}$	$Pur_{A, X}$	$Pur_{B, R}$	$Rec_{A, X}$	$Rec_{B, R}$	$Pr_{A, X}$	$Pr_{B, R}$	DC	t_{troca}
Ching et al	25	90,1	93,7	94	90	115	110	0,29	45
Lim et al	25	85,9	97,5	98	84	*	*	0,35	30

$$A = D - PZQ ; B = L - PZQ$$

$$[C] = g \cdot L^{-1}$$

$$[Pur] = [Rec] = \%$$

$$[Pr] = g \cdot kg_{ads}^{-1} \cdot dia^{-1}$$

$$[DC] = L \cdot g_{rac}^{-1}$$

$$[t_{troca}] = min$$

Tabela 2.2: Resultados obtidos nos trabalhos referenciados em [6, 27].

O trabalho desenvolvido por SANTOS (2016) [51], é um exemplo de contribuição do nosso grupo de pesquisa que desenvolveu o sistema cromatográfico com uma coluna comercial atual, avaliando o equilíbrio de adsorção dos enantiômeros do praziquantel sobre uma fase estacionária com seletividade quiral – *tris(3-cloro-4-metilfenilcarbamato) celulose* – por meio da aplicação de diferentes modelos de isoterma de adsorção.

A partir deste estudo, CUNHA (2017) [10], usando o sistema cromatográfico obtido, projetou e construiu a unidade LMS utilizada nos experimentos do presente estudo, avaliando diferentes estratégias de controle em escala semi-preparativa visando a separação dos enantiômeros do praziquantel em diferentes concentrações.

2.3 Considerações

Dado que o objetivo do presente estudo é realizar a separação dos enantiômeros do praziquantel presentes em uma mistura racêmica, o processo cromatográfico se apresenta como uma opção promissora quanto à eficácia de separação. Entretanto, à medida que aumenta a escala de produção, a separação em batelada utilizando o HPLC se torna inviável do ponto de vista econômico, como mencionado no Tópico 1.2.

Já a separação através de adsorção em leito móvel simulado, um processo que se destaca por promover um movimento relativo em contracorrente entre as fases sólida e líquida através do conjunto de válvulas que mudam periodicamente de posição, ocasionando em um aumento de produtividade e diminuição no consumo de solvente, apresenta-se como uma alternativa mais viável do ponto de vista dos parâmetros de performance. Para isso, se faz necessário estabelecer as condições de operação de cada zona de separação, a partir da equivalência entre os processos de LMV e LMS, desde que sejam obedecidas algumas regras e simplificações, baseados na Teoria do Triângulo.

Na década de 90, o desenvolvimento de novas FEQs em paralelo com as restrições impostas por agências regulatórias relacionados à qualidade e a pureza de produtos alimentícios e farmacêuticos, bem como o desenvolvimento de novos processos produtivos de compostos ativos, permitiu às indústrias a utilização do LMS como ferramenta fundamental na separação de misturas racêmicas.

3 Materiais e Metodologia Experimental

3.1 Materiais e Equipamentos

3.1.1 Materiais

O solvente utilizado nos experimentos e o soluto a ser separado foram, respectivamente:

- Etanol para HPLC, fornecido pela Tedia;
- Mistura racêmica na forma sólida de praziquantel (PZQ), fornecido pela LASiFA – Farmanguinhos/Fiocruz.

O etanol utilizado foi previamente filtrado para o uso nos experimentos, utilizando os seguintes materiais:

- Kitassato de 1000 mL;
- Funil de Büchner;
- Membrana feita de politetrafluoroetileno (PTFE) suportada por polietileno, poro médio de 0,22 μm e diâmetro de 47 mm, fornecido pela Millipore;
- Frasco SCHOTT Duran de 1000 mL.

3.1.2 Equipamentos

Equipamento usado para filtrar o etanol:

- Bomba de vácuo, modelo 131, fornecido pela Primatec.

Equipamentos usados nas análises em HPLC, todos fornecidos pela JASCO Co., como ilustrado na Figura 3.1:

- Bomba para HPLC. Modelo PU-2087;
- Autosampler, modelo AS-2059;
- Forno, modelo CO-2060;
- Detector UV/Vis, modelo UV-2077;
- Computador equipado com software JASCO Co. ChromNav;
- Uma coluna cromatográfica, modelo Chiralcel OZ[®], fornecida pela Diacel Co.

com as seguintes características:

- a. Partículas revestidas de material seletivo *tris(3-cloro-4-metilfenilcarbamato) celulose*;
- b. Diâmetro de partículas monodispersas: 20 µm;
- c. Diâmetro interno: 10 µm;
- d. Comprimento: 100 mm.

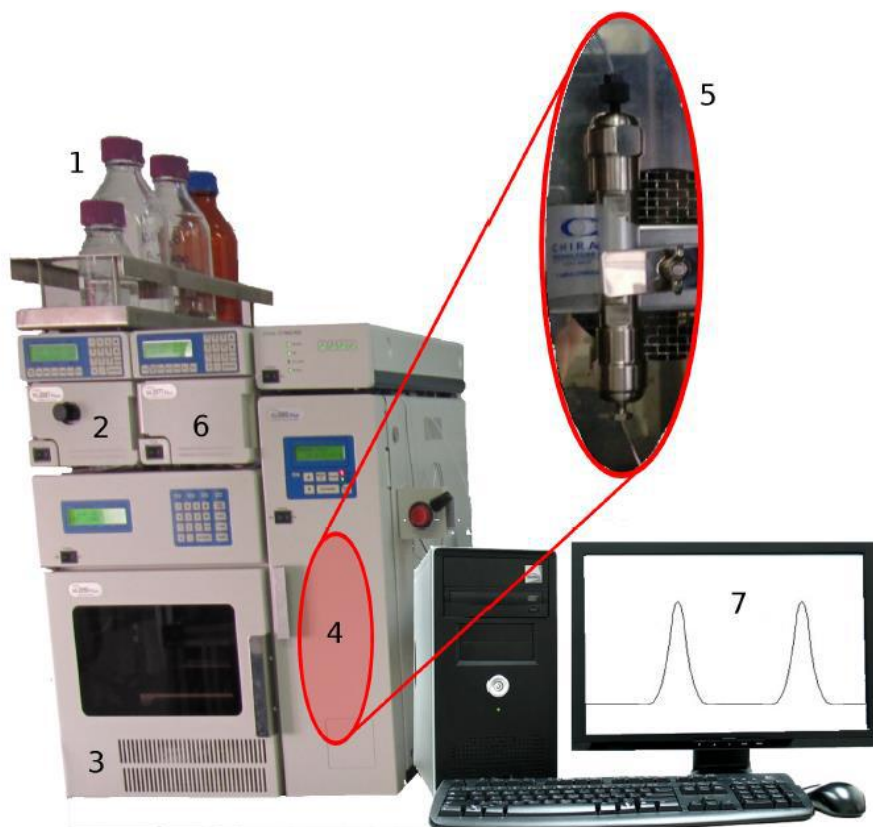


Figura 3.1: Foto do sistema de HPLC utilizado. (1) Frasco de solvente; (2) Bomba; (3) Autosampler; (4) Forno; (5) Coluna Chiralcel OZ®; (6) Detector UV/Vis e (7) Software JASCO Co. ChromNav.

Equipamentos usados na unidade de separação LMS, ilustrado na Figura 3.2:

- Desgaseificador, modelo DG-2080-54, fornecido pela JASCO Co.;
- Quatro bombas HPLC, modelo PU-2086, fornecidas pela JASCO Co.;
- Seis válvulas multiposição E8, com diâmetro de 0,40 mm, fornecidas pela ViCi®;
- Seis válvulas com atuador microeletrônico e duas posições, fornecidas pela ViCi®;
- Seis colunas cromatográficas, modelo Chiralcel OZ®, fornecidas pela Diacel Co. (mesmo modelo utilizado no HPLC).
- Duas válvulas de alívio proporcional em aço inoxidável, série R3A para alta pressão, modelo SS-4R3A, fornecidas pela Swagelok;
- Nobreak, modelo Laser Senoidal 4200 VA, fornecido pela NHS

- Três instrumentos *Data Acquisition* (DAQ), modelo NI USB-6501, fornecidos pela *National Instruments*;
- Computador equipado com *LabView* 2012, Intel Core i7 4ª geração, 16 GB de memória RAM DDR3, seis portas DB9 e oito portas USB

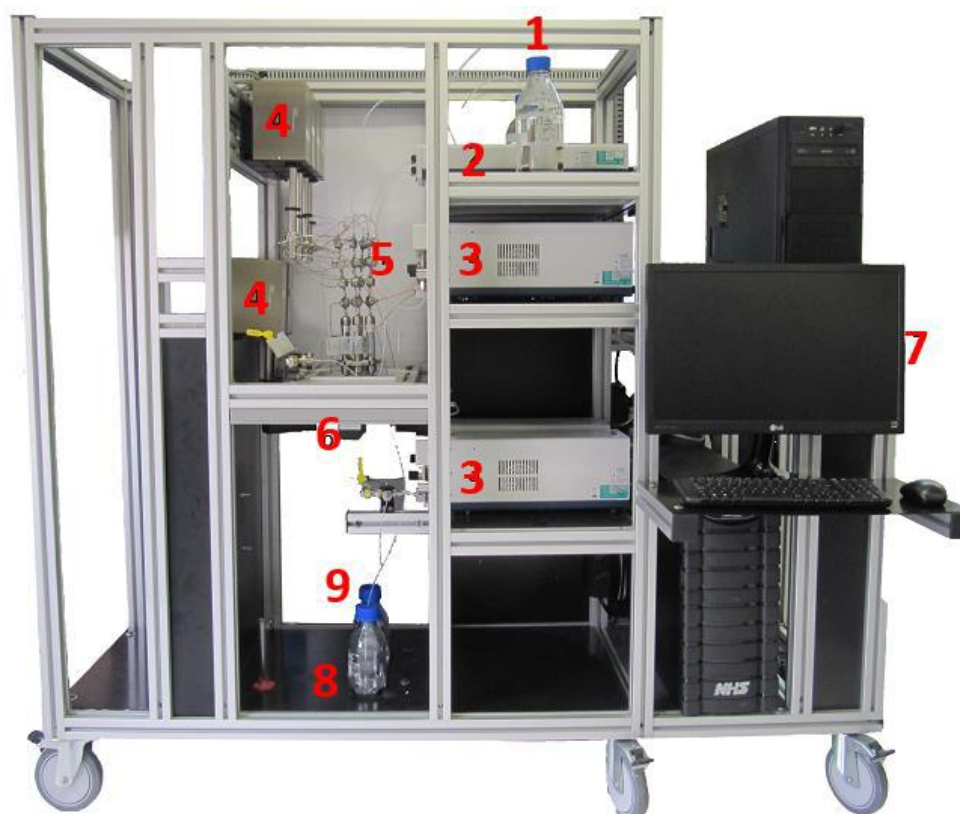


Figura 3.2: Foto do sistema LMS utilizado. (1) Frascos de Alimentação/Dessorvente; (2) Desgaseificador; (3) Bombas; (4) Válvulas; (5) Colunas Chiralcel OZ®; (6) Válvulas com 2 posições; (7) Interface – LabView; (8) Frasco de Coleta de Extrato e (9) Frasco de Coleta de Refinado.

No *LabView*, foi desenvolvido pelo aluno Rômulo de Holanda, um painel de supervisão e controle do processo cromatográfico de Leito Móvel Simulado com o intuito de prover ao operador da unidade LMS uma ferramenta capaz de sincronizar a operação dos equipamentos presentes na unidade, por meio do ajuste dos valores dos parâmetros de operação, o acompanhamento em tempo real de variáveis, como pressão e tempos de troca de posição das válvulas, e a exportação de dados

experimentais para arquivos externos, permitindo análises posteriores da dinâmica do processo.

Este painel de supervisão é dividido em três abas que são ilustradas na Figura 3.3, Figura 3.4 e Figura 3.5, respectivamente:

- *“Simulated Moving Bed: Process Diagram”*: responsável pela indicação e monitoramento das posições de todas as válvulas do processo, indicação dos valores de pressão medidos pelas bombas e a identificação em tempo real das linhas de transmissão em operação (por onde há circulação da fase fluida).
- *“Valves, Controls and Indicators”*: responsável pelo controle temporal do posicionamento de todas as válvulas, assim como a presença da matriz de controle de tempos de troca e indicadores numéricos, responsáveis pelo monitoramento do tempo restante até a próxima troca.
- *“Pumps Controls and Indicators”*: responsável pelo monitoramento e controle dos parâmetros funcionais das quatro bombas Jasco, indicando a evolução dos valores medidos de pressão ao longo do tempo de experimento, aos controles numéricos responsáveis pelo reajuste das vazões de operação e aos controles responsáveis pelo ligamento e desligamento dos bombeamentos.

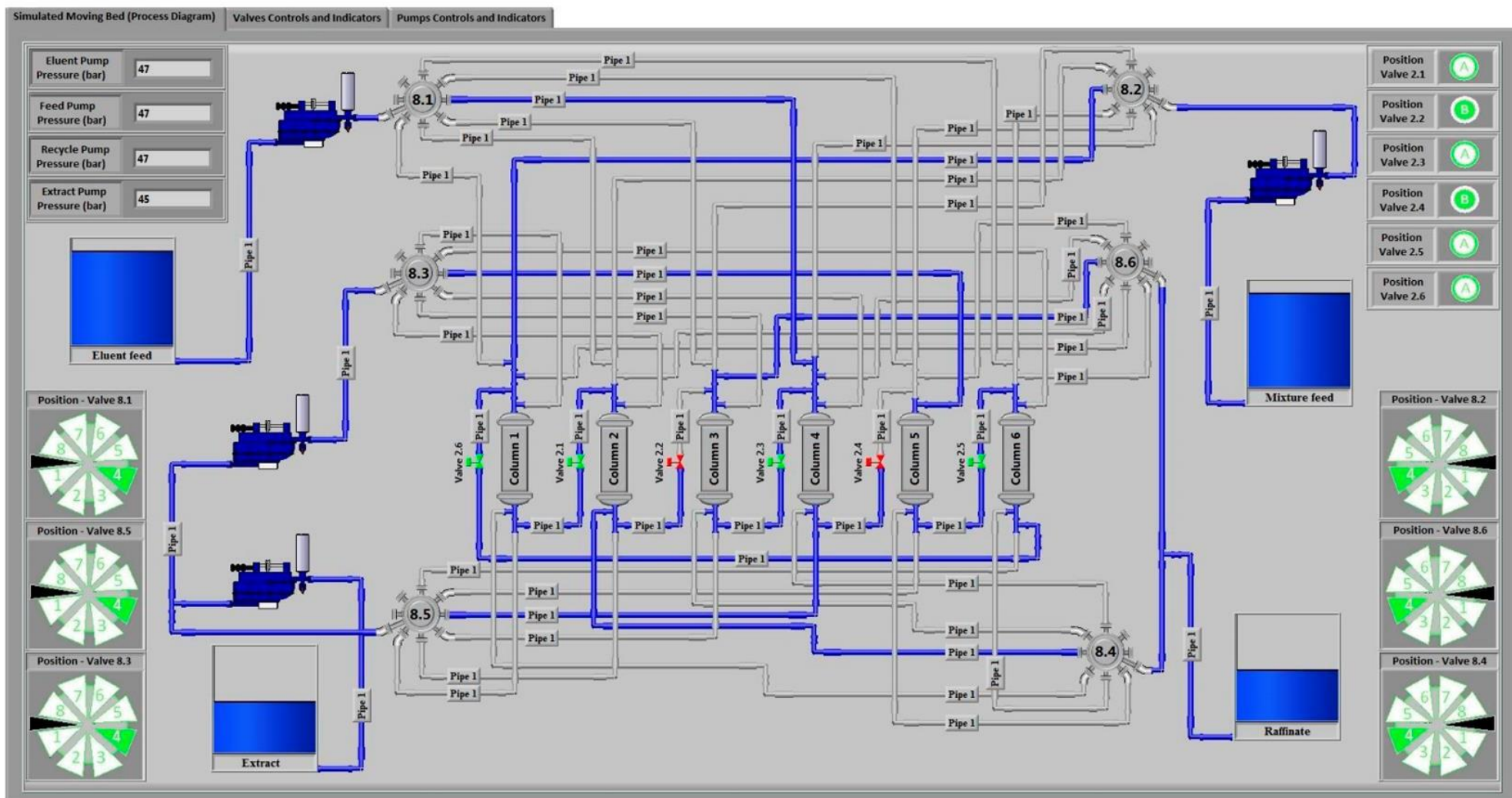


Figura 3.3: Aba "Simulated Moving Bed: Process and Diagram" do painel de supervisão no LabView.

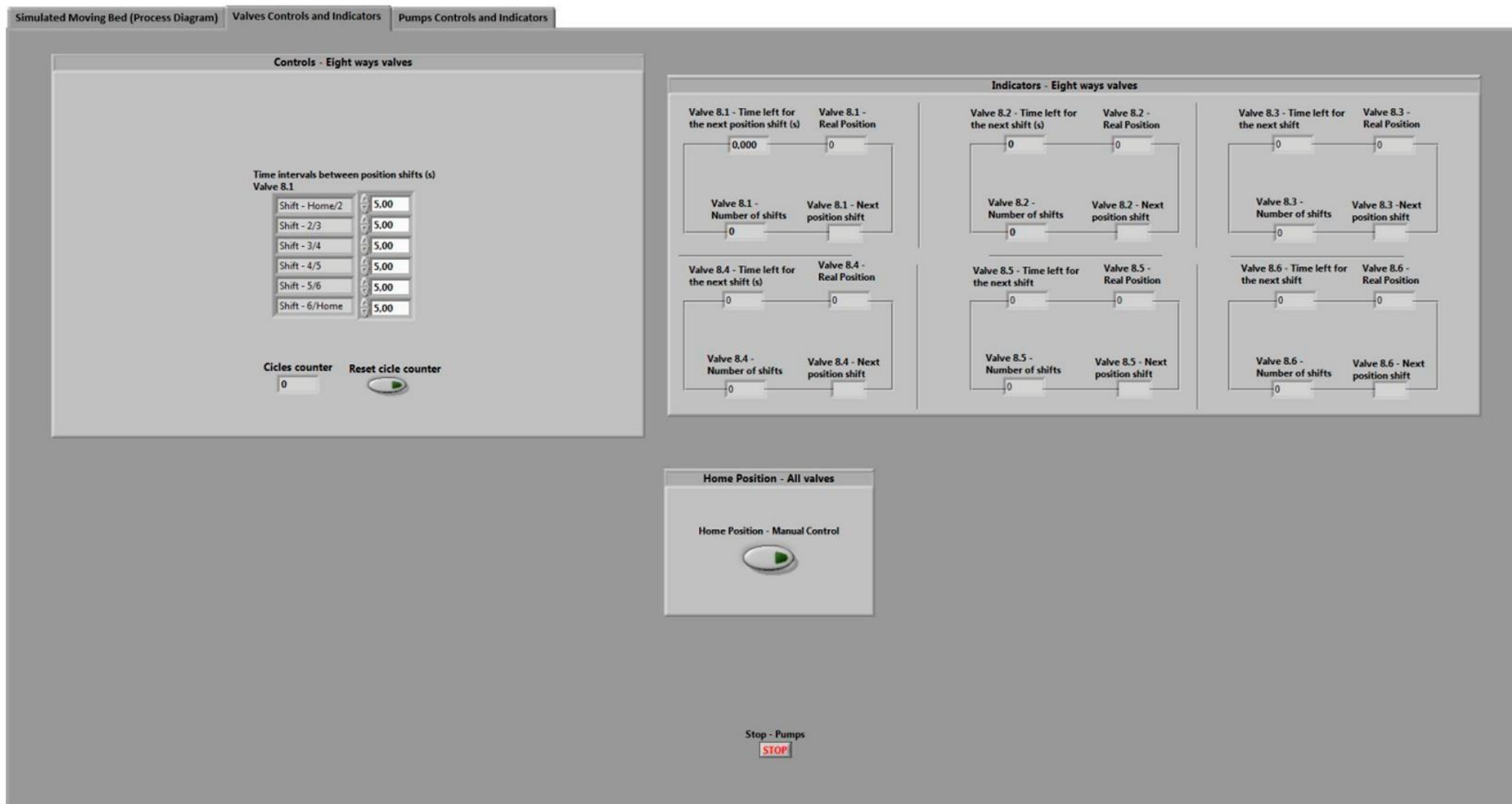


Figura 3.4: Aba “Valves, Controls and Indicators” do painel de supervisão no LabView.

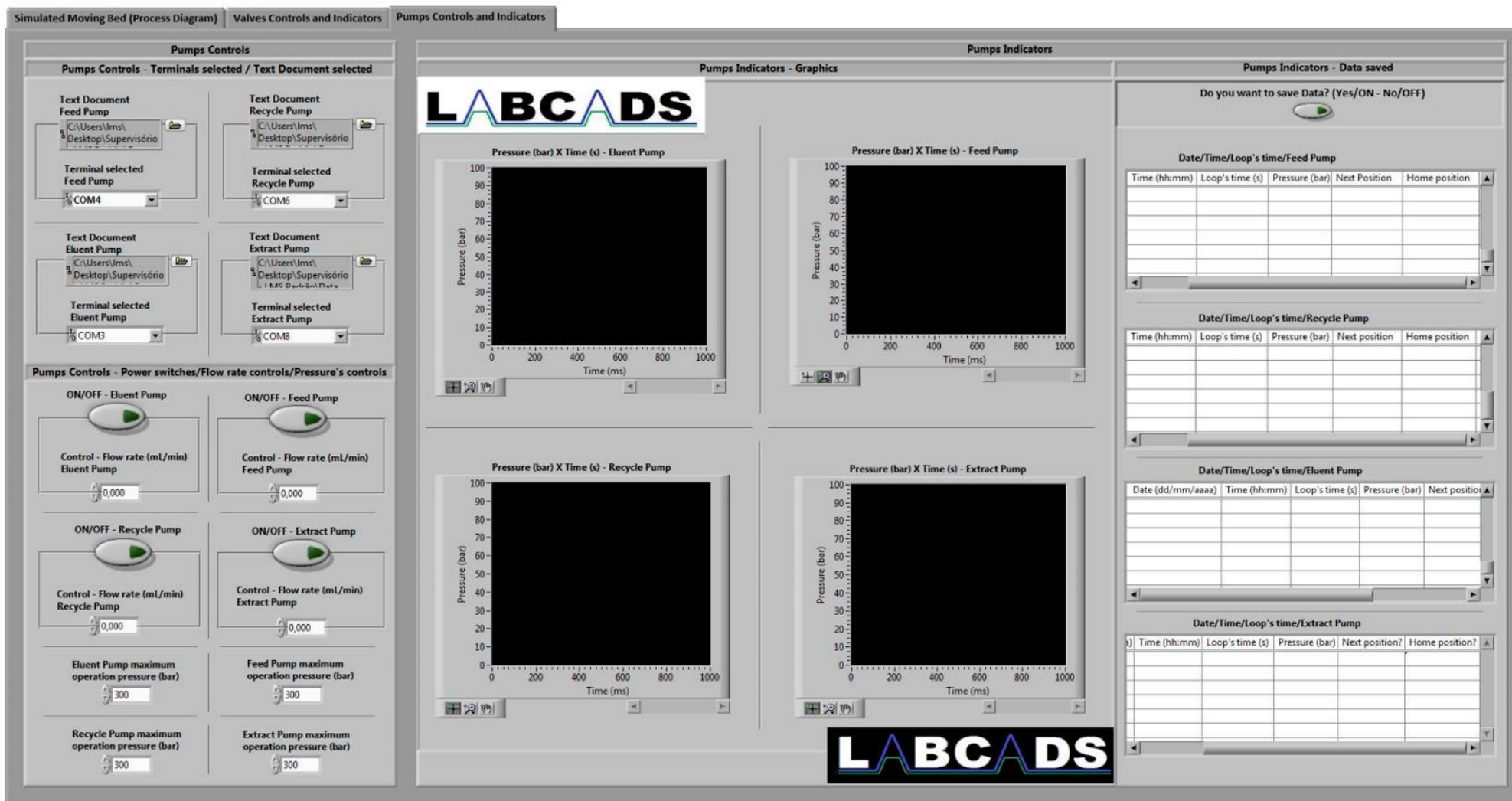


Figura 3.5: Aba "Pumps Controls and Indicators" do painel de supervisão no LabView.

3.2 Metodologia Experimental

Os experimentos foram realizados utilizando a unidade LMS apresentada na Figura 3.2, ressaltando o fato de ter sido construída e operacionalizada no próprio LabCads, localizada em uma sala climatizada com o objetivo de garantir, o mais próximo possível, condições isotérmicas. As condições de operação – vazões das bombas e tempo de troca das válvulas – foram calculados baseados na Teoria do Triângulo.

As seis colunas cromatográficas utilizadas na unidade LMS foram dispostas ao longo das zonas de separação da seguinte maneira: uma coluna na zona 1, duas colunas na zona 2, duas colunas na zona 3 e uma coluna na zona 4. Usualmente essa configuração é representada por [1:2:2:1].

As quatro bombas utilizadas (bomba de recirculação, bomba de dessorvente, bomba de alimentação e bomba de extrato) estão situadas, respectivamente, na zona 2, corrente de dessorvente, corrente de alimentação de mistura racêmica e corrente de saída de extrato.

Através de um software elaborado em *MatLab* por NETO (2016) [40] é possível estimar, teoricamente, o número de ciclos necessários para que o sistema atinja o estado estacionário cíclico e, de acordo com as nossas condições de operação, cinco ciclos são necessários. Sendo assim, em cada experimento foram realizados cinco ciclos, em triplicata, onde em cada sexto tempo de troca do quinto ciclo, isto é, quando o sistema já havia atingido a região de estado estacionário cíclico, foi coletado todo o volume em cada uma das correntes de saída, de extrato e refinado. Em seguida, foi transferido para frascos separados para serem analisados no HPLC, também em triplicata.

No HPLC foram feitos experimentos para definir a vazão de operação, injetando 20 μ L da mistura racêmica, de modo a obter a melhor resolução de separação entre os picos. Posteriormente foi realizado uma calibração com ambos enantiômeros puros, no comprimento de onda de 240nm, a serem conduzidos na região linear da isoterma, cuja área correspondente à concentração é dada pela respectiva equação linearizada $[\mu V \cdot s] = 1941799 \cdot C_{A \text{ ou } B} (g \cdot L^{-1}) - 8219$ e coeficiente de determinação (R^2) igual a 0,999.

As médias das constantes de Henry, \bar{H}_A e \bar{H}_B , e da porosidade interna, $\bar{\varepsilon}_{int}$, das colunas cromatográficas utilizadas nos experimentos foram calculadas previamente em trabalhos internos do grupo LabCAds, antecedentes ao presente estudo, e são apresentados na Tabela 3.1

Parâmetros Calculados	
$\bar{\varepsilon}_{int}$	$0,7419 \pm 0,0006$
\bar{H}_A	$9,35 \pm 0,04$
\bar{H}_B	$5,03 \pm 0,02$

Tabela 3.1: Constantes de Henry de A (D-PZQ) e B (L-PZQ) e a porosidade interna da coluna.

A seguir, é apresentada uma breve explicação das características dos experimentos propostos com o objetivo de validar o comportamento experimental baseado nas regiões apresentadas pela Teoria do Triângulo e são apresentados na Figura 3.6.

- Experimento I – dentro do triângulo de separação (área A) na Figura 3.6;
- Experimento II – na região de corrente de extrato puro e refinado contaminado (área B) na Figura 3.6;
- Experimento III – na região de corrente de extrato contaminado e refinado puro (área C) na Figura 3.6;
- Experimento IV – no vértice do triângulo de separação (ponto O) na Figura 3.6;
- Experimento V – na mesma região do Experimento I, dentro do triângulo de separação (área A) na Figura 3.6, porém adotando uma concentração de mistura racêmica maior

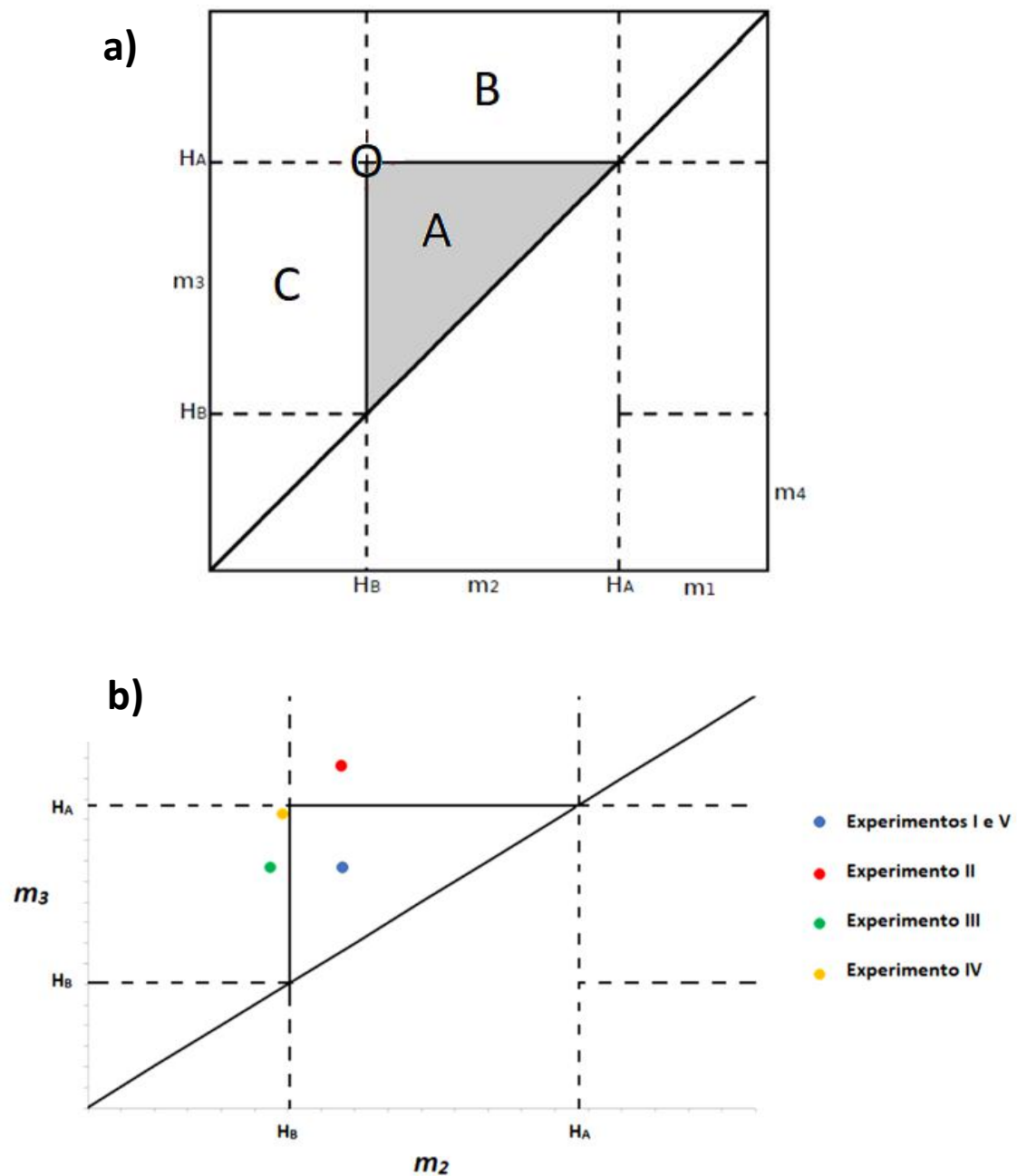


Figura 3.6: (a) Regiões de separação escolhidas, de acordo com a Teoria do Triângulo.
 (b) Localização dos Experimentos propostos, de acordo com a Teoria do Triângulo.

Na Tabela 3.2 são apresentados os dados referentes à cada experimento proposto.

Experimentos	I	II	III	IV	V
β_1	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2
β_2	1,2	1,2	0,9	1,0	1,2
β_3	1,2	0,9	1,2	1,0	1,2
β_4	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2
m_1	11,14	11,14	11,14	11,14	11,14
m_2	5,99	5,99	4,49	4,99	5,99
m_3	7,74	10,32	7,74	9,29	7,74
m_4	4,16	4,16	4,16	4,16	4,16
Q_s	0,572	0,231	0,308	0,233	0,572
Q_1^{LMV}	6,368	2,574	3,433	2,594	6,368
Q_2^{LMV}	3,423	1,383	1,384	1,162	3,423
Q_3^{LMV}	4,423	2,383	2,384	2,162	4,423
Q_4^{LMV}	2,377	0,961	1,281	0,968	2,377
Q_1^{LMS}	8,011	3,238	4,318	3,263	8,011
Q_2^{LMS}	5,065	2,047	2,269	1,831	5,065
Q_3^{LMS}	6,065	3,047	3,269	2,831	6,065
Q_4^{LMS}	4,019	1,625	2,166	1,637	4,019
Q_R	2,022	1,406	1,090	1,179	2,022
Q_X	2,912	1,177	2,026	1,416	2,912
Q_D	3,946	1,595	2,127	1,607	3,946
Q_F	0,988	0,988	0,988	0,988	0,988
t_{troca}	3,55	8,78	6,58	8,71	3,55

Tabela 3.2: Condições operacionais dos experimentos realizados.

4 Resultados e Discussão

4.1 Processo em Batelada - HPLC

Na Figura 4.1 estão apresentados os cromatogramas obtidos no HPLC com a injeção de 20 μL de mistura racêmica de PZQ com concentração igual a 1 g/L com o objetivo de definir a vazão de operação a partir da melhor condição de separação entre os enantiômeros, em que o pico menos retido e o pico mais retido correspondem ao L-PZQ e D-PZQ, respectivamente. Sendo assim, foi escolhido que a vazão de operação de 1 mL/min para o processo em batelada no HPLC, considerando o menor tempo de operação quando comparado com a vazão de 0,5 mL/min.

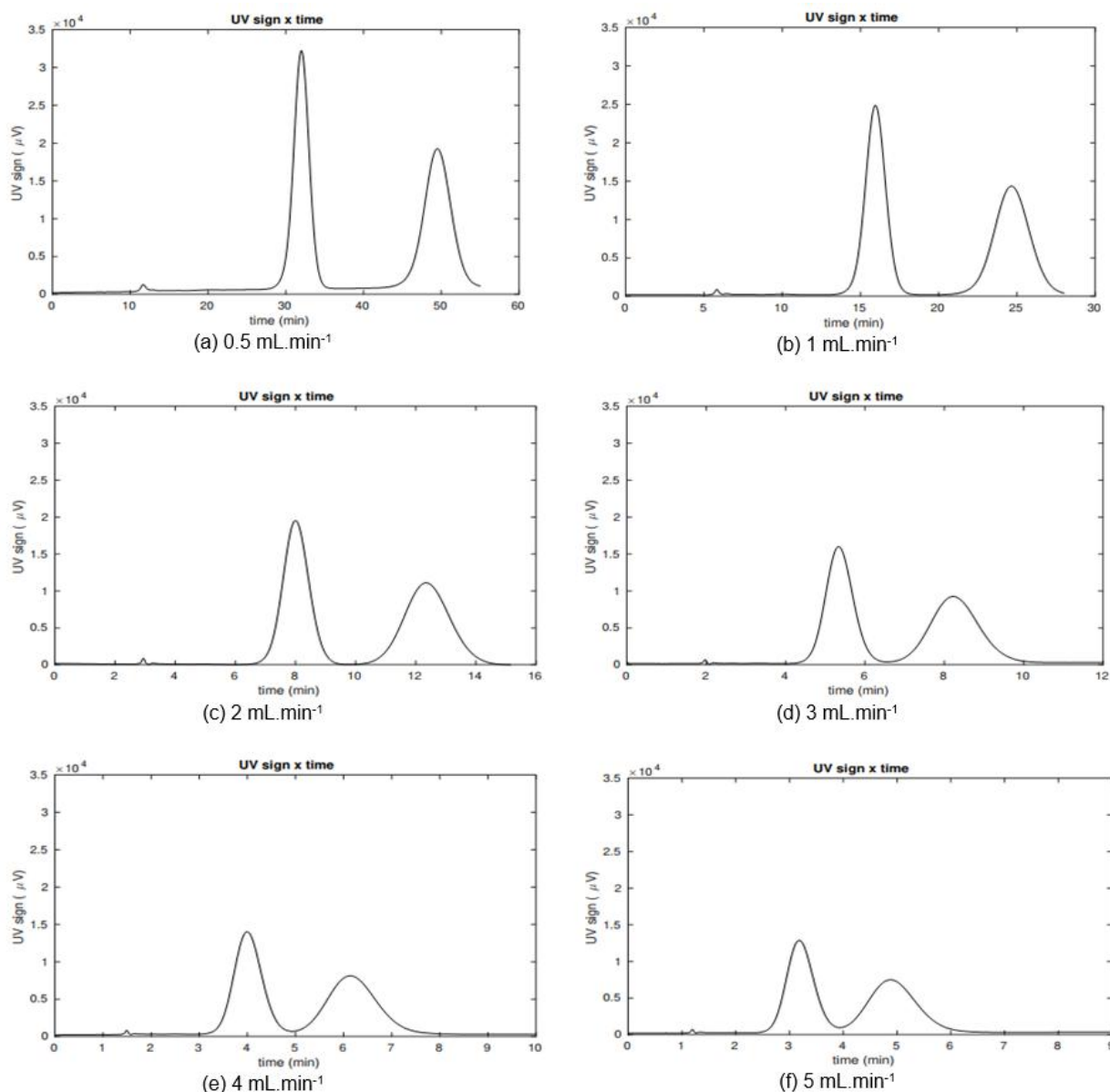
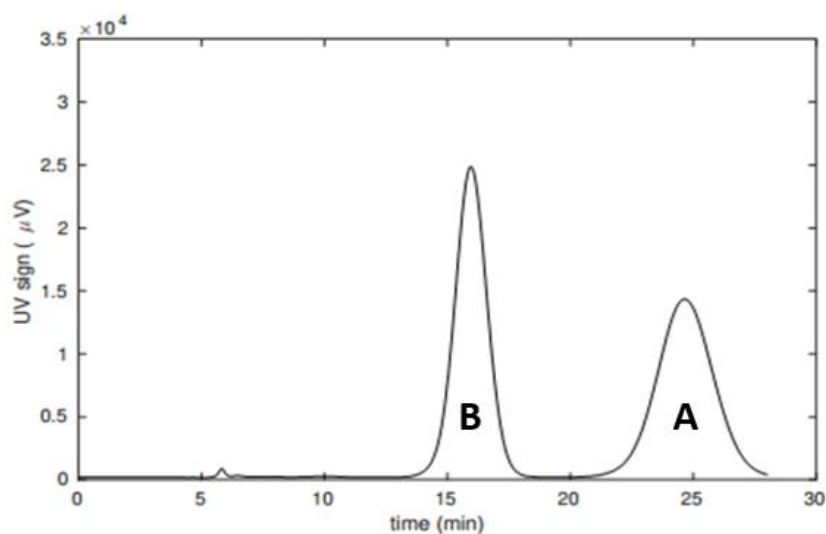


Figura 4.1: Cromatogramas obtidos dos experimentos para definir as condições operacionais do processo em batelada.

A Figura 4.2 apresenta os resultados obtidos na separação através do processo em batelada no HPLC, calculados com base nos parâmetros de performance apresentados no tópico 2.1. As condições experimentais de operação foram, respectivamente:

- Vazão de operação = 1 mL/min;
- Volume injetado de 20 μ L;
- Comprimento de onda de 240 nm;
- Concentração de 1 g/L.



Pureza _A (%)	100
Recuperação _A (%)	100
Produtividade _A (g/kg _{ads} -dia)	0,48
Consumo de Solvente (L/g _{rac})	1500

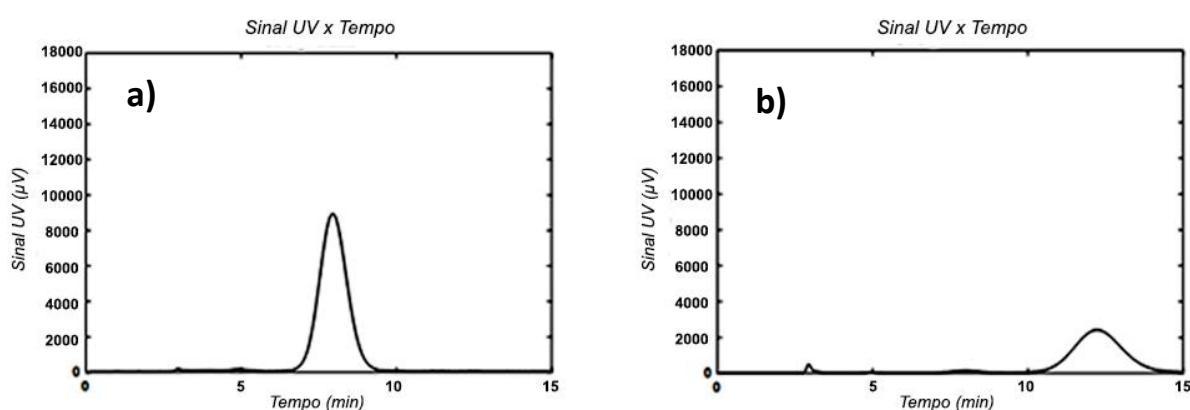
Pureza _B (%)	100
Recuperação _B (%)	100
Produtividade _B (g/kg _{ads} -dia)	0,48
Consumo de Solvente (L/g _{rac})	1500

A = D-PZQ
B = L-PZQ

Figura 4.2: Resultados obtidos no processo em batelada e seus respectivos parâmetros de performance.

4.2 Processo Contínuo - LMS

No primeiro experimento (Experimento I) foi proposto um cenário conservador, intencionalmente dentro da área de total separação em ambas as correntes de saída (extrato e refinado), longe das bordas, com o intuito de operar de maneira robusta, ou seja, de maneira que a variação das constantes de equilíbrio de adsorção dos enantiômeros devido a mudança de temperatura (isto é, oscilação dos coeficientes de Henry) e flutuações de vazão fornecida pelas bombas sejam consideradas perturbações regulares e ignoradas pela abordagem através da teoria do triângulo. A Figura 4.3 ilustra a análise no HPLC, posterior à separação no LMS, assim como os parâmetros de performance obtidos.



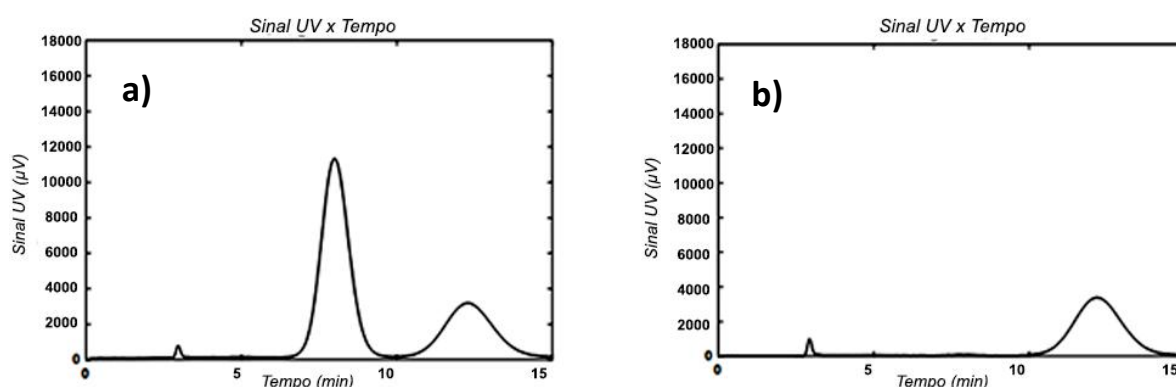
<i>Pureza_{B,R}</i>	100 ± 0	<i>Pureza_{A,X}</i>	97 ± 2
<i>Recuperação_{B,R}</i>	104 ± 10	<i>Recuperação_{A,X}</i>	94 ± 10
<i>Produtividade_{B,R}</i>	64 ± 6	<i>Produtividade_{A,X}</i>	58 ± 10
<i>Consumo de Solvente_{B,R}</i>	$4,8 \pm 0,4$	<i>Consumo de Solvente_{A,X}</i>	$4,8 \pm 0,4$

Figura 4.3: Cromatogramas obtidos no Experimento I e respectivos parâmetros de performance. (a) Corrente de refinado e (b) Corrente de extrato.

Porém, apesar da pureza ótica de D-PZQ (A) ter sido alta (aproximadamente 97% e de 100% para o L-PZQ (B)), a separação completa não ocorreu e esse fato se deve principalmente pelo número finito de colunas por zona – as zonas 2 e 3, responsáveis por separar a mistura racêmica proveniente da corrente de alimentação (Q_F), possuem duas colunas cromatográficas cada – e com isso a consideração fundamental imposta pela teoria do triângulo de interpretar o processo como LMV poderia não ser satisfeita.

É uma situação muito distante do número infinito de colunas cromatográficas impostas pela abordagem LMV usada nos cálculos das vazões de cada zona e assim, a mesma discussão é válida para as zonas 1 e 4 – que há apenas uma coluna cromatográfica em cada zona –, responsáveis por regenerar as fases líquida e sólida, respectivamente.

Em comparação com o Experimento I, o cenário proposto para o Experimento II mantém constante as razões entre as vazões da fase líquida e sólida (m_i) nas zonas 1, 2 e 4, mas a razão entre as vazões da fase líquida e sólida na zona 3 (m_3) aumenta o suficiente para mudar o experimento para a área B na Figura 3.6 – região de corrente de extrato puro e corrente refinado contaminada. Os resultados são apresentados a seguir na Figura 4.4:



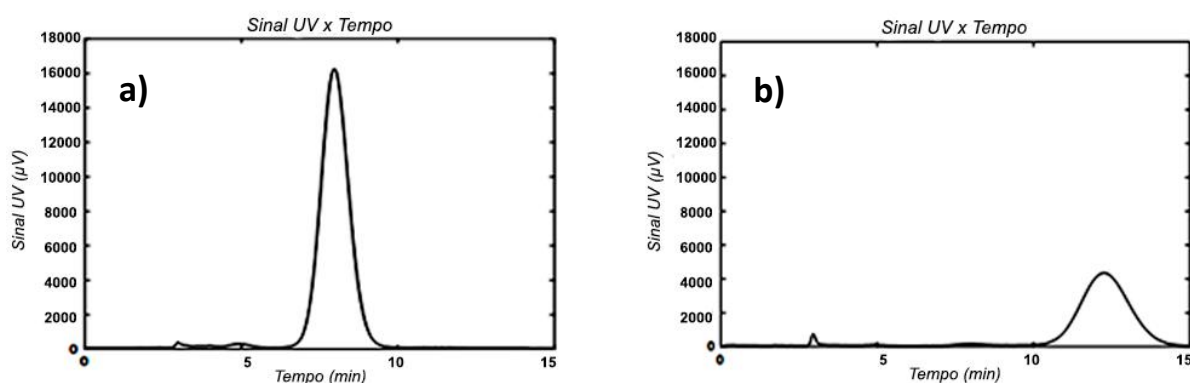
<i>Pureza_{B,R}</i>	68 ± 2	<i>Pureza_{A,X}</i>	99 ± 1
<i>Recuperação_{B,R}</i>	102 ± 3	<i>Recuperação_{A,X}</i>	47 ± 4
<i>Produtividade_{B,R}</i>	63 ± 3	<i>Produtividade_{A,X}</i>	29 ± 1
<i>Consumo de Solvente_{B,R}</i>	$2,5 \pm 0,3$	<i>Consumo de Solvente_{A,X}</i>	$2,5 \pm 0,3$

Figura 4.4: Cromatogramas obtidos no Experimento II e respectivos parâmetros de performance. (a) Corrente de refinado e (b) Corrente de extrato.

Os resultados coincidiram com as observações teóricas, onde, na corrente de extrato a pureza ótica de D-PZQ foi de 100% e na corrente de refinado a pureza ótica de L-PZQ foi largamente contaminada por D-PZQ, como visto na Figura 4.4.

Como praticamente não foi detectado L-PZQ na corrente de extrato, a recuperação da corrente de refinado foi de 100%. Por outro lado, o D-PZQ saiu como contaminante na corrente de refinado e por isso foi observado uma queda na sua recuperação e, consequentemente, na sua produtividade, enquanto que a produtividade do L-PZQ permaneceu a mesma que no Experimento I.

Para o terceiro experimento (Experimento III), foi mantido constante a razão entre vazões da fase líquida e sólida (m_i) das zonas 1, 3 e 4, enquanto que a razão entre vazões da fase líquida e sólida da zona 2, m_2 , diminuiu o suficiente para mudar o experimento para a área D na Figura 3.6 – na região de corrente de extrato contaminado e corrente de refinado puro – e o cromatograma obtido é ilustrado na Figura 4.5.

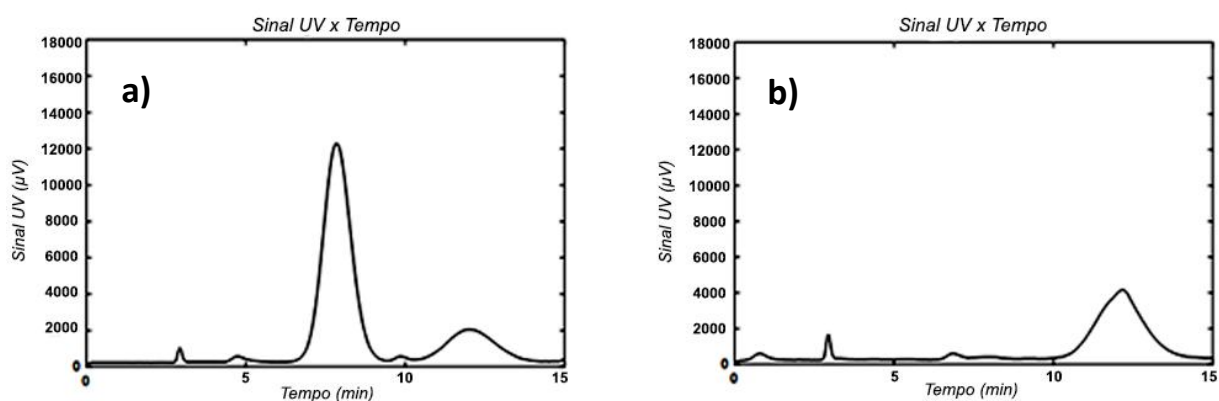


<i>Pureza_{B,R}</i>	100 ± 0	<i>Pureza_{A,X}</i>	$98,6 \pm 0,2$
<i>Recuperação_{B,R}</i>	100 ± 3	<i>Recuperação_{A,X}</i>	96 ± 3
<i>Produtividade_{B,R}</i>	67 ± 1	<i>Produtividade_{A,X}</i>	64 ± 5
<i>Consumo de Solvente_{B,R}</i>	$2,8 \pm 0,1$	<i>Consumo de Solvente_{A,X}</i>	$2,8 \pm 0,1$

Figura 4.5: Cromatogramas obtidos no Experimento III e respectivos parâmetros de performance. (a) Corrente de refinado e (b) Corrente de extrato.

Como previsto, foi obtido na corrente de refinado L-PZQ com 100% de pureza ótica, enquanto que a corrente de extrato foi levemente contaminada por L-PZQ. Este experimento foi realizado fora, mas próximo à região do triângulo de separação (área A), assim, altas recuperações de ambos enantiômeros ajudaram a manter a produtividade também de ambos enantiômeros no mesmo nível do Experimento I.

Já o Experimento IV foi planejado para operar no ponto O da Figura 3.6, o vértice do triângulo de separação, o ponto de operação desejado pela máxima eficiência e o cromatograma obtido é apresentado na Figura 4.6. Nesse ponto, a separação deveria ocorrer com máxima produtividade, mas infelizmente, não se trata de uma operação robusta pois a operação se torna muito sensível às mudanças de temperatura (isto é, oscilação dos coeficientes de Henry), flutuações das vazões entregues pelas bombas e o número finito de colunas na unidade real LMS, o que torna imprevisível os resultados, pois devido a tais flutuações o experimento pode ocorrer de fato em qualquer uma das regiões A, B, C ou D da Figura 3.6.

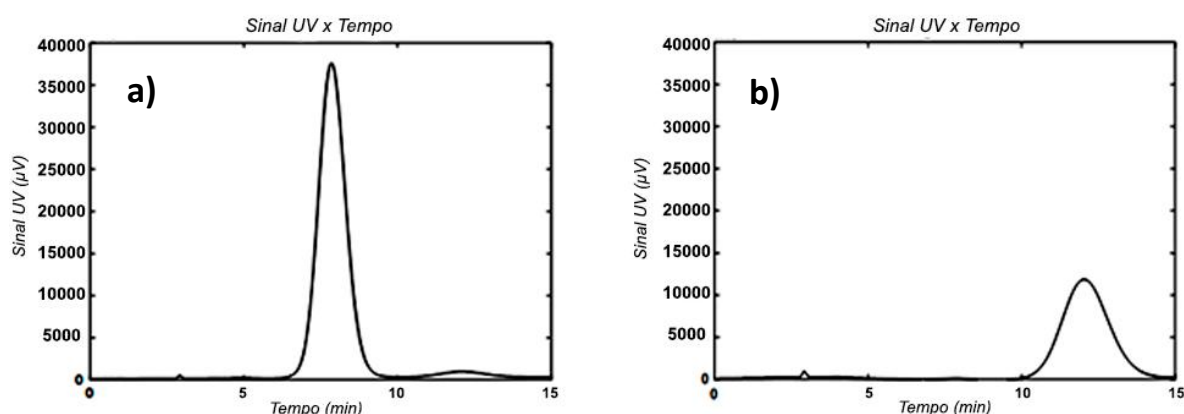


<i>Pureza_{B,R}</i>	78 ± 2	<i>Pureza_{A,X}</i>	98 ± 1
<i>Recuperação_{B,R}</i>	97 ± 3	<i>Recuperação_{A,X}</i>	71 ± 6
<i>Produtividade_{B,R}</i>	53 ± 4	<i>Produtividade_{A,X}</i>	39 ± 7
<i>Consumo de Solvente_{B,R}</i>	$2,9 \pm 0,3$	<i>Consumo de Solvente_{A,X}</i>	$2,9 \pm 0,3$

Figura 4.6: Cromatogramas obtidos no Experimento IV e respectivos parâmetros de performance. (a) Corrente de refinado e (b) Corrente de extrato.

Como já era esperado, o experimento foi realizado fora do triângulo de separação, culminando em ambas as correntes contaminadas, evidenciando a necessidade de boas estratégias de controle capazes de mudar a unidade LMS para o mais próximo possível do vértice do triângulo.

O Experimento V foi realizado sob as mesmas condições que o Experimento I, mas com o objetivo de separar os enantiômeros em escala semi-preparativa, utilizando uma concentração cinco vezes maior, de 5 g.L⁻¹ e o resultado obtido é apresentado pela Figura 4.7. Como consequência, a produtividade foi aumentada e o consumo de dessorvente foi diminuído significativamente, evidenciando a mais importante razão de operar uma unidade real LMS em altas concentrações, isto é, na região não linear da isoterma.



<i>Pureza_{B,R}</i>	97,1 ± 0,2	<i>Pureza_{A,X}</i>	98 ± 1
<i>Recuperação_{B,R}</i>	103 ± 5	<i>Recuperação_{A,X}</i>	90 ± 4
<i>Produtividade_{B,R}</i>	295 ± 4	<i>Produtividade_{A,X}</i>	253 ± 10
<i>Consumo de Solvente_{B,R}</i>	1,06 ± 0,02	<i>Consumo de Solvente_{A,X}</i>	1,06 ± 0,02

Figura 4.7: Cromatogramas obtidos no Experimento V e respectivos parâmetros de performance. (a) Corrente de refinado e (b) Corrente de extrato.

A Tabela 4.1 reúne os resultados obtidos em cada um dos experimentos propostos, assim como os resultados obtidos pelos trabalhos referenciados em [6, 27].

Experimentos	I	II	III	IV	V	Ching <i>et al</i>	Lim <i>et al</i>
$\bar{C}_A \text{ e } B,F$	$0,55 \pm 0,03$	$0,53 \pm 0,03$	$0,57 \pm 0,03$	$0,46 \pm 0,03$	$2,02 \pm 0,03$	25	25
$Pur_{A,X}$	97 ± 2	99 ± 1	$98,6 \pm 0,2$	98 ± 1	98 ± 1	90,1	85,9
$Pur_{B,R}$	100 ± 0	68 ± 2	100 ± 0	78 ± 2	$97,1 \pm 0,2$	93,7	97,5
$Rec_{A,X}$	94 ± 10	47 ± 4	96 ± 3	71 ± 6	90 ± 4	94	98
$Rec_{B,R}$	104 ± 10	102 ± 3	100 ± 3	97 ± 3	103 ± 5	90	84
$Pr_{A,X}$	58 ± 10	29 ± 1	64 ± 5	39 ± 7	253 ± 10	115	*
$Pr_{B,R}$	64 ± 6	63 ± 3	67 ± 1	53 ± 4	295 ± 4	110	*
DC	$4,8 \pm 0,4$	$2,5 \pm 0,3$	$2,8 \pm 0,1$	$2,9 \pm 0,3$	$1,06 \pm 0,02$	0,29	0,35
t_{troca}	3,55	8,78	6,58	8,71	3,55	45	30

$A = D\text{-}PZQ$; $B = L\text{-}PZQ$

$[C] = g \cdot L^{-1}$

$[Pur] = [Rec] = \%$

$[Pr] = g \cdot kg_{ads}^{-1} \cdot dia^{-1}$

$[DC] = L \cdot g_{rac}^{-1}$

$[t_{troca}] = min$

Tabela 4.1: Resultados obtidos no processo contínuo na unidade LMS e comparação com os trabalhos referenciados em [6, 27].

Apesar da concentração da mistura racêmica nos experimentos em [6] serem bem maiores que a concentração no Experimento V, quase todos os parâmetros de performance da nossa unidade LMS foram próximas ou até mesmo superiores.

Em [27], a maior pureza de L-PZQ na corrente de refinado foi acompanhada por uma baixa recuperação, que significa que L-PZQ foi perdido como contaminante na corrente de extrato. A comparação com [6] mostra que a recuperação na corrente de extrato foi menor, por outro lado, a produtividade na corrente de extrato foi aproximadamente duas vezes maior, enquanto que a produtividade na corrente de refinado foi quase três vezes maior. Estes são resultados muito interessantes porque evidenciam que uma grande produção com alta pureza nas correntes e com alta recuperação poderia ser produzida de modo contínuo pela unidade LMS utilizada nesse estudo. O único

parâmetro de performance que os nossos experimentos não superaram foi o consumo de dessorvente, isso devido à alta concentração de alimentação de mistura racêmica nos trabalhos comparados.

A utilização de *tris(3-cloro-4-metilfenilcarbamato) celulose* (Chiralcel OZ) como FEQ (fase estacionária quiral) melhorou muito a eficiência de separação devido a melhor estabilidade mecânica em comparação com MCTA, tornando a dinâmica muito mais rápida. Outra característica importante é sobre a sua estrutura molecular, que possui substituintes especiais situados nos anéis aromáticos da porção de fenil polissacarídeo de modo que não seja solúvel em dessorvente polares (como o etanol) e isto é altamente desejável já que o PZQ possui grande solubilidade em etanol.

No Experimento V a unidade atingiu o estado estacionário cíclico em aproximadamente 106 minutos, muito mais rápido do que nos trabalhos presentes na literatura, em que no trabalho de Ching et al foi atingido em aproximadamente 540 minutos (9 horas) e no trabalho de Lim et al não há evidências diretas de quando foi atingido o estado estacionário cíclico, mas com as informações disponíveis de 30 minutos de tempo de troca das válvulas somado às oito colunas cromatográficas e MCTA como FEQ deveriam fazer com que a unidade atingisse o estado estacionário cíclico em algumas horas (mais do que 106 minutos).

Os Experimentos I, III e V produziram altas purezas óticas em ambas as correntes, principalmente nos Experimentos I e III onde foi obtido 100% de pureza ótica de L-PZQ na corrente de refinado e tal importância não se restringe apenas ao fato de ser o princípio ativo contra *Schistosoma*, mas também de diversas linhas de pesquisa que visam modificações estruturais do L-PZQ com o objetivo de potencializar a sua ação esquistossomicida, assim como pesquisas que visam novas formulações, sólidas ou líquidas, de maneira enantiomericamente puras.

A importância de altas purezas também não se restringe apenas ao L-PZQ, mas também ao D-PZQ, que é de extrema importância para estudos de racemização, visando produzir novamente um racemato a partir de D-PZQ puro, permitindo melhores parâmetros de performance, uma vez que parte da corrente de saída de extrato poderia ser reintroduzida na corrente de alimentação de mistura racêmica.

Porém, é preciso destacar o desempenho na separação através da unidade LMS quando os resultados obtidos são comparados ao processo em batelada no HPLC. A Tabela 4.2 ilustra essa comparação, usando como parâmetro o Experimento I e Experimento V, abordando o cenário mais conservador, intencionalmente proposto dentro da área de total separação em ambas as correntes de saída. É importante ressaltar que, no HPLC o processo não é contínuo e não há troca de posições das válvulas como no LMS, sendo assim o “ t_{troca} ” se refere ao tempo de uma batelada.

Processo	Batelada	Contínuo	
Experimentos	HPLC	I	V
$\bar{C}_{A\text{ ou }B,F}$	0,50	$0,55 \pm 0,03$	$2,02 \pm 0,03$
$Pur_{A,X}$	100	97 ± 2	98 ± 1
$Pur_{B,R}$	100	100 ± 0	$97,1 \pm 0,2$
$Rec_{A,X}$	100	94 ± 10	90 ± 4
$Rec_{B,R}$	100	104 ± 10	103 ± 5
$Pr_{A,X}$	0,48	58 ± 10	253 ± 10
$Pr_{B,R}$	0,48	64 ± 6	295 ± 4
DC	1500	$4,8 \pm 0,4$	$1,06 \pm 0,02$
t_{troca}	30	3,55	3,55

$$A = D - PZQ ; B = L - PZQ$$

$$[C] = g \cdot L^{-1}$$

$$[Pur] = [Rec] = \%$$

$$[Pr] = g \cdot kg_{ads}^{-1} \cdot dia^{-1}$$

$$[DC] = L \cdot g_{rac}^{-1}$$

$$[t_{troca}] = min$$

Tabela 4.2: comparação dos resultados obtidos entre os processos em batelada e contínuo.

No que diz respeito aos parâmetros relacionados à pureza e recuperação, os resultados não destoaram tanto de um processo para o outro, mas quanto à produtividade e consumo de solvente, o processo contínuo através da unidade LMS mostrou ser amplamente mais vantajoso.

5 Conclusão

A partir dos resultados obtidos, conclui-se que o objetivo principal proposto no presente estudo – realizar a separação dos enantiômeros do praziquantel e comparar o desempenho de cada processo – foi atingido com sucesso, como apresentado ao longo do tópico 4, desde os experimentos prévios que visaram definir as condições de operação para cada processo até os experimentos com o intuito de comparar o desempenho em ambas as abordagens, evidenciando que, em termos de produtividade e consumo de solvente, o processo em Leito Móvel Simulado é muito mais vantajoso, como apresentado na Tabela 4.2.

Além disso, os experimentos serviram para validar o comportamento da unidade LMS baseado no comportamento teórico, que se mostrou satisfatório dentro das limitações impostas pela teoria do triângulo.

Os resultados apresentados na Tabela 4.1 mostram que a unidade LMS foi testada em diversas situações em que foi produzido pelo menos uma corrente com alta pureza – nos Experimentos I e III, L-PZQ foi produzido na corrente de refinado com 100% de pureza ótica e no Experimento II, a corrente de extrato foi produzida com 100% de pureza ótica. Além disso, nos casos em que a pureza ótica obtida foi alta, os percentuais de recuperação e produtividade também se mantiveram altos, superando vários parâmetros de performance dos trabalhos referenciados, mas operando com concentrações menores de mistura racêmica do PZQ. Isso devido à alta performance da *tris(3-cloro-4-metilfenilcarbamato) celulose* como FEQ somado ao desenho da unidade LMS que, com a presença da zona 4, evidencia a reciclagem do dessorvente, ou seja, menos dessorvente fresco é consumido, aumentando a eficiência do processo.

Sendo assim, o excelente desempenho de separação apresentado pelo processo contínuo em Leito Móvel Simulado torna o cenário promissor, permitindo diversos novos estudos como, por exemplo, (1) envolvendo racemização da corrente contendo D-PZQ puro que pode ser convertido novamente em uma mistura racêmica e reintroduzido ao sistema, aumentando ainda mais a eficiência do processo; (2) síntese de análogos estruturais do PZQ visando o combate contra parasitas resistentes e

imaturos; (3) desenvolvimento de estratégias de controle preditivo com o objetivo de fornecer enantiômeros em escala semi-preparativa com diferentes purezas óticas, máxima produtividade e mínimo consumo de dessorvente; dentre outros.

6 Referências Bibliográficas

1. ANDREWS, P.; THOMAS, H.; POHLKE, R.; SEUBERT, J. (1983). **Praziquantel**. Med Res Rev 3: 147–200.
2. BAXTER, C. A. R.; RICHARDS, H. C. (1971). **Schistosomicides: derivatives of 2-aminomethyl-1,2,3,4-tetrahydroquinoline**. J Med Chem, v 14, p. 1033-1042.
3. BERBERIAM, D. A.; et al. (1967). **A comparison of oral and parental activity of hycanthone and lucanthone in experimental infections with *Schistosoma mansoni* schistosomula in mice**. Am. J. Trop. Med. Hyg., v. 16, p 487-491.
4. CAREY, F. (1992). **Organic Chemistry**, 2ed. New York, Mc GrawHill.
5. CHARTON, F.; NICOUD, R. M. (1995). **Complete design of a simulated moving bed**. Journal of Chromatography A, 702, 97-112.
6. CHING, CB; LIM, B.; LEE, E.; NG, S. C. (1993). **Preparative resolution of praziquantel enantiomers by simulated counter-current chromatography**. Journal of Chromatography A 634 (2): 215-219.
7. CHRISTOPHERSON, J. B. (1918). **The successful use of antimony in bilharziosis administred as intravenous injections of antimonium tartaratum (tartar emetic)**. Lancet, v. 2, p 325-327.
8. CIOLI, D.; PICA-MATTOCCIA, L. (2003). **Praziquantel**. Parasitology, 90: S3-S9.
9. CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S. **Organic Chemistry**. 2ª. ed. Nova Iorque: Oxford University Press, 2012.
10. CUNHA, F. C. (2017). **Design and Control of a Simulated Moving Bed chromatographic unit**. Qualificação de Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, COPPE/UFRJ.
11. DAWS, A.; BILLS, J. E.; ULRICH, A. M. (1979). **Initial experiences with praziquantel in the treatment of human infections due to *Schistosoma haematobium***. Bull. Wld Hlth Org. 57:773 779.
12. DEUTSCH, D. H. (1991). **Chemtech**, 157.
13. ELIEL, E. L.; WILEN, S. H. (1994). **Stereochemistry of Organic Compounds**. New York, John Wiley.

14. ENGELS, D.; SAVIOLI, L. (2006). **Reconsidering the underestimated burden caused by neglected tropical diseases**. Trends Parasitol, 2006; 22; 363-366.
15. FASSIHI, A. R. (1993). **Racemates and enantiomers in drug development**. International Journal of Pharmaceutics 1993, v. 92, 1.
16. FOSTER, R. (1973). **The preclinical development of oxamniquina**. Rev Inst Med Trop. São Paulo, 15 (supl 1), p 1-9.
17. FRANCOTTE, E.; RICHERT, P. (1997). **Applications of simulated moving-bed chromatography to the separation of the enantiomers of chiral drugs**. Journal of Chromatography A, 769, pp 101-107.
18. GIBBONS, A. (1992). **Researches fret over neglect of 600 million patients**. Science, v; 256, p 1135.
19. GUIOCHON, G. (2002). **Preparative liquid chromatography**. Journal of Chromatography A, 965, 129-161.
20. HAAG, J.; WOUWER, V.; LEHOUCQ, S.; SAUCEZ, P. (2001). **Modeling and simulation of SMB chromatographic process designed for enantioseparation**. Control Engineering Practice, 9, 921 – 928.
21. HARRUS, S.; BANETH, G. (2005). **Drivers for emergence and reemergence of vector-borne protozoal and bacterial diseases**. Int J Parasitol, 2005; 35 (11-12): 1309-1318.
22. International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC). **Tentative Rules for the Nomenclature of Organic Chemistry**. Section E. Fundamental Stereochemistry.; J. Org. Chem. 1970, 35, 2849.
23. JUZA, M.; MAZZOTTI, M.; MORBIDELLI, M. (2000). **Simulated moving-bed chromatography and its application to chirotechnology**. Trends in biotechnology, 18, pp 108 – 118.
24. KATZ, N.; ROCHA, R. S.; CHAVES, A. (1979). **Preliminary trials with praziquantel in human infections due to Schistosoma mansoni**. Bull. Wld Hlth Org. 57: 781-785.
25. KIKUTH, W.; GONNERT, R. (1948). **Experimental studies on the therapy of schistosomiasis**. Ann. Trop. Med. Parasitol., v. 42, p 256-267.
26. LAMBERT, C. R. (1964). **Chemootherapy of experimental Schistosoma mansoni infection with nitro-thiazole derivate, CIBA 32, 644**. Ba. Ann. Trop. Med. Parasitol. V. 58, p 292-303.

27. LIM, B.-G., CHING, C.-B., TAN, R. B. H., *et al.* (1995). **Recovery of (-)-Praziquantel from racemic mixtures by continuous chromatography and crystallisation.** Chemical Engineering Science, v. 14, pp. 2289–2298.
28. LIU, Y.; QIAN, M.; WANG, X.; JIA, J.; WANG, Q.; *et al.* (1986). **Comparative efficacy of praziquantel and its optic isomers in experimental therapy of Schistosomiasis japonica in rabbits.** Chin Medical J 99: 935–940.
29. LUCENA, S. L. (1999). **Modelagem e simulação da separação das proteínas α -lactalbumina e β -lactalbumina por cromatografia preparativa em resinas trocadoras de ânions utilizando leito móvel simulado.** Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP, Brasil.
30. MAIER, N.; FRANCO, P.; LINDER, W. (2001). **Separation of enantiomers: needs, challenges, perspectives.** Journal of Chromatography A, 906, 3 – 33.
31. MAZZOTTI, M.; PEDEFERRI, M. P.; MORBIDELLI, M. (1996). **Design of optimal and robust operating conditions for chiral separations using simulated moving beds.** Proceeding of the Chiral Europe 96 Sumposium, Spring Innovantions Limited, Stockport, UK, p 103-112.
32. MAZZOTTI, M.; SORT, G.; MORBIDELLI, M. (1997). **Optimal operation of simulated moving bed units for nonlinear chromatographic separations.** Journal of Chromatography A, 769, pp 3-24.
33. MCKERROWN, J. H. (2005). **Designing drugs for parasitic diseases of the developing world.** PLoS Med, 2, e210.
34. Medicines Sans Frontieres (2001). **Fatal imbalance: the crisis in research and development for drugs for negected diseases.**
35. MEYER, T.; SEKLJIC, H.; FUCHS, S.; BOTHE, H.; SCHOLLMMEYER, D.; *et al.* (2009) **Taste, A new incentive to switch to (R)-praziquantel in schistosomiasis treatment.** PLoS Negl Trop D 3: e357.
36. MILLER, P.; WILSON, R. A. (1980). **Migration of schistosomula of *Schistosoma mansoni* from the lungs to hepatic portal system.** Parasitology, v. 80, p 267-288.
37. MILLERSHIP, J.; FITZPATRICK, A.; (1993). **Commonly used chiral drugs: a survey.** Chirality 1993, 5, 573.
38. MINCEVA, M.; PAIS, L. S.; RODRIGUES, A. L. (2003). **Cyclic steady state of simulated moving bed process for enantiomers separation.** Chemical Engineering and Processing, 42, pp 93-104.

39. MOREL, C. M. (2006). **Inovação em saúde e doenças negligenciadas**. Editorial Cad Saúde Pública 2006; 22 (8): 1522-1523.
40. NETO, A. A., SECCHI, A., JR., M. S., et al. (2016) **Nonlinear model predictive control applied to the separation of praziquantel in simulated moving bed chromatography**, Journal of Chromatography A, v. 1470, pp. 42, Sep 2016.
41. NICOUD, R. M. (2000). **Handbook of bioseparations**. Ahuja, S., vol. 2, pp 475-509.
42. OLIVEIRA, L. S. S. (2009). **As Doenças Negligenciadas e Nós**. Saúde Coletiva. 2009; 28:40-1.
43. PAES, N. A.; SILVA, L. A. (1999). **Doenças infecciosas e parasitárias no Brasil: uma década de transição**. Rev Panam Salud Publica, 1999, 6, 99-109.
44. PAIS, L. S.; LOUREIRO, J. M.; RODRIGUES, A. E. (1997a). **Separation of 1,1-binaphtol enantiomers by continuous chromatography in simulated moving bed**. Chemical Engineering Science, 52, 2, 245-257.
45. PATRICK, G. L. (1995). **An Introduction to Medicinal Chemistry**. Oxford, Oxford University Press.
46. PONTES, F. (2009). **Doenças negligenciadas ainda matam 1 milhão por ano no mundo**. Rev Inovação em Pauta. 2009; 6:69-73.
47. RAJENDRAN, A.; PAREDES, G.; MAZZOTTI, M. (2009). **Simulated moving bed chromatography for the separation of enantiomers**. Journal of Chromatography A, v. 1216, n. 4, p. 709-738.
48. RICHARDS, H. C.; FOSTER, R. (1969). **A new series of 2-aminomethyltetrahydroquinoline derivatives displaying schistosomicidal activity in rodents and primates**. Nature, v 222, p 581-582.
49. RODRIGUES, A. E. (2015). **Simulated Moving Bed Technology**. 1 ed. United States of America, Elsevier Inc.
50. ROSI, D.; *et al.* (1965). **A new active metabolite of miracil D**. Nature (London), v. 208, p 1005-1006.
51. SANTOS, R. C. (2016). **Estudo do equilíbrio de adsorção entre os enantiômeros do praziquantel e a fase sólida celulose tris 3-cloro, 4-metil fenilcarbamato por meio de regressão não linear de modelos de isotermas**. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, EQ/UFRJ.

52. SAVIOLI, L. (2009) **Neglected Tropical Diseases (NTDs): Yesterday's drain, tomorrow's gain for global health.** WHO: Presentation at the American Society for Tropical Medicine and Hygiene.
53. SCHULTE, M.; STRUBE, J. (2001). **Preparative enantioseparation by simulated moving bed chromatography.** Journal of Chromatography A, 906, pp 399 – 416.
54. SILVA Jr., I. J.; VEREDAS, V.; SANTOS, M. A. G.; SANTANA, C. C.; CARPES, M. J. S.; CORREIA, C. R. D. (2006). **Cromatografia em leito móvel simulado na produção de substâncias enantiomericamente puras ou enriquecidas em larga escala.** Química Nova, 29, pp 1027-1037.
55. TANAKA, M.; OHMAE, H.; UTSUNOMIYA, H.; NARA, T.; IRIE, Y.; *et al.* (1989). **A comparison of the antischistosomal effect of levo- and dextro-praziquantel on *Schistosoma japonicum* and *S. mansoni* in mice.** Am J Trop Med Hyg 41: 198–203.
56. THALL, E. (1996). **For one example of the different activity of two enantiomers.** J. Chem. Educ., v. 73, 481-484.
57. THOMAS, H. C.; *et. al.* (1975). **A new compound against adult tapewormes.** Proceeding of 7th Internacional Conference of the World Association for de Advancemnt of Veterinary. Parasitology. Abstract 51.
58. WEBBE, G.; JAMES, C. (1977). **A comparison of the susceptibility to praziquantel of *Schistosoma heamatobium*, *S. japonicum*, *S. mansoni*, *S. intercalatum* and *S. mattheei* in hamster.** Z Parasitenkd, v. 52, p 169-177.
59. WHEATER, P. R.; WILSON, R. A. (1979). ***Schistosoma mansoni*: a histological study of migration in the laboratory mouse.** Parasitology, v. 79, p 49-62.
60. WILSON, R. A. (1987). **Cercariae to liver worms: Development and Migration in the mammalian host.** In: Rollinson D. and Simpson, A. J. G. The Biology of Schistosomes from genes to latrines. Academic Press, London, p 114-146.
61. WOELFLE, M.; OLLIARO, P.; TODD, M. H. (2011). **Open science is a research accelerator.** Nature Chemistry. 3 (10): 745–748.
62. WOELFLE, M.; SEERDEN, J-P; DE GOOIJER, J.; POUWER, K.; OLLIARO, P.; *et al.* (2011). **Resolution of Praziquantel.** PLoS Negl Trop Dis 5(9): e1260.
63. World Health Organization (WHO). **Global Plan to Combat Neglected Tropical Diseases 2008-2015.**
64. World Health Organization (WHO). **Macroeconomics and Health: investing in health for economic development.** Geneva, 2001.

65. World Health Organization (WHO). **Model List of Essential Medicines**, 15th Ed., World Health Organization, Geneva, 2007.
66. World Health Organization (WHO). **The control of schistosomiasis**. Second report of the WHO Expert Committee, Geneva, 1993.
67. World Health Organization (WHO). **Working to overcome the global impact of neglected tropical diseases**. First WHO report on neglected tropical diseases. Geneva: WHO; 2010.
68. WU, M. H.; WEI, C. C.; XU, Z. Y.; YUAN, H. C.; LIAN, W. N.; *et al.* (1991). **Comparison of the therapeutic efficacy and side effects of a single dose of levo-praziquantel with mixed isomer praziquantel in 278 cases of Schistosomiasis japonica**. *Am J Trop Med Hyg* 45: 345–349.
69. YU, H. W.; CHING, CB. (2002). **Optimization of a simulated moving bed based on an approximated Langmuir model**. *AIChE Journal*, 48, 10, pp 2240-2246.